

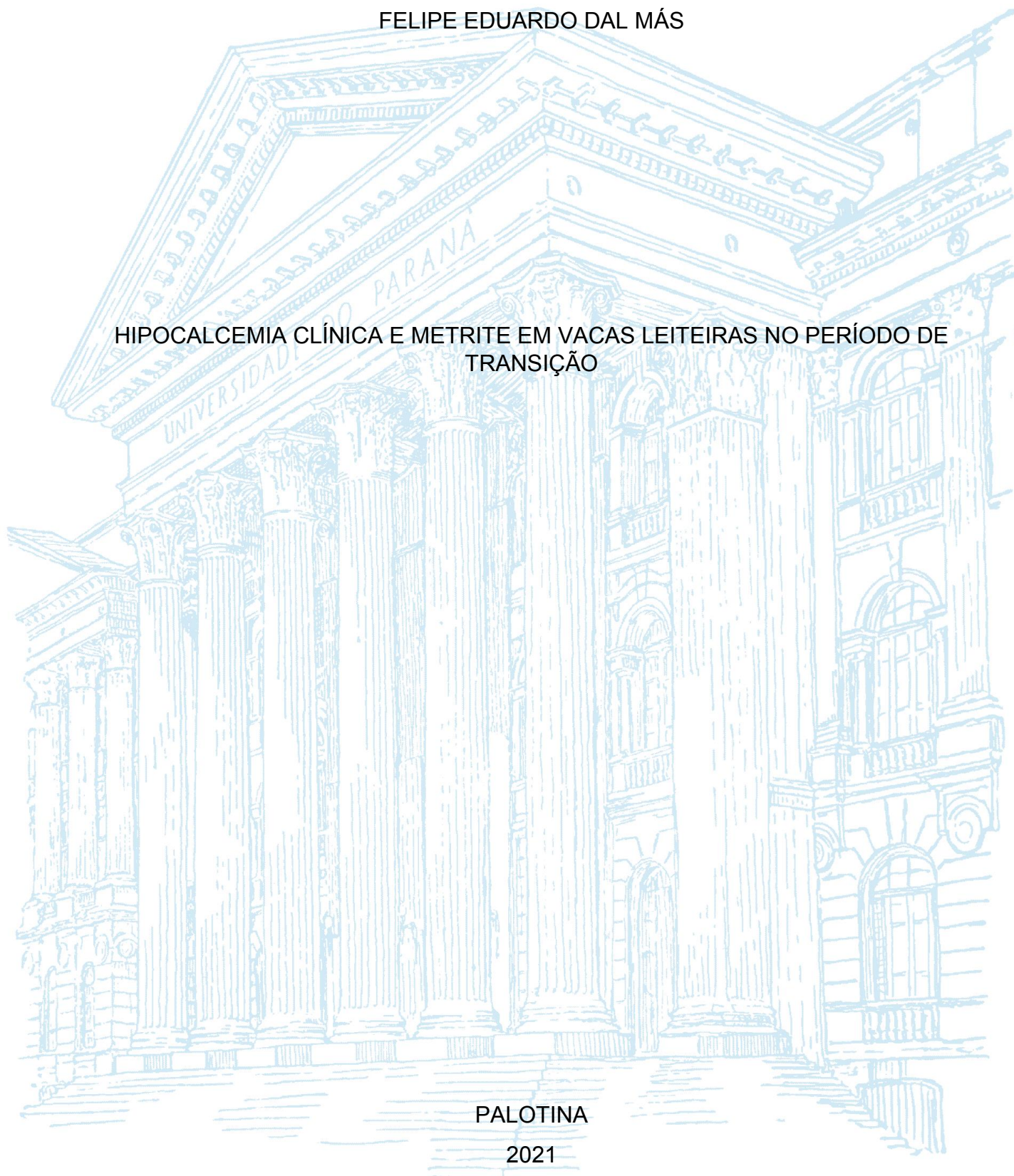
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

FELIPE EDUARDO DAL MÁS

HIPOCALCEMIA CLÍNICA E METRITE EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE  
TRANSIÇÃO

PALOTINA

2021



FELIPE EDUARDO DAL MÁŠ

HIPOCALCEMIA CLÍNICA E METRITE EM VACAS LEITEIRAS NO PERÍODO DE  
TRANSIÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciência Animal, área de concentração Saúde Animal, linha de pesquisa Patologia Animal, Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Marilene Machado  
Silva

PALOTINA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

D136 Dal Más, Felipe Eduardo  
Hipocalcemia clínica e metrite em vacas leiteiras no período de transição / Felipe Eduardo Dal Más – Palotina, 2021.  
115f.

Orientadora: Marilene Machado Silva  
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná,  
Setor Palotina, Programa de Pós-graduação em Ciência Animal.

1.Hemograma. 2.Exames bioquímicos. 3.Cálcio. 4. Cetose. 5. Beta-hidroxibutirato. I. Silva, Marilene Machado. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDU 636



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
SETOR PALOTINA  
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ  
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIA ANIMAL -  
40001016077P6

## TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIA ANIMAL da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da Dissertação de Mestrado de **FELIPE EDUARDO DAL MÁZ** intitulada: **Hipocalcemia clínica e metrite em vacas leiteiras no período de transição**, sob orientação da Profa. Dra. MARILENE MACHADO SILVA, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 16 de Março de 2021.

Assinatura Eletrônica

16/03/2021 17:02:25.0

MARILENE MACHADO SILVA

Presidente da Banca Examinadora (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

16/03/2021 17:06:41.0

ERICA CRISTINA BUENO DO PRADO GUIRRO

Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

16/03/2021 16:53:42.0

PRISCILLA FAJARDO VALENTE PEREIRA

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE LONDRINA)

## **AGRADECIMENTOS**

Venho por meio deste agradecer a todos que contribuíram para a realização deste mestrado. Inicialmente gostaria de agradecer a toda minha família, principalmente aos meus pais Volmir e Leila, meu irmão Gustavo e meus avós Miria, Daniel e Rita (em memória), pelo seu apoio e incentivo sempre presente e por terem sido minha base, meu exemplo de vida, essenciais na minha formação pessoal, e por terem dado condições para que chegasse até aqui.

Queria agradecer a todos os professores que tive durante a pós-graduação, compartilhando seus conhecimentos, fundamentais na trajetória acadêmica, e em especial agradecer a minha professora orientadora Marilene, que me acompanhou desde a graduação, seguindo na pós-graduação, sendo essencial nesta caminhada, por todo o conhecimento, os conselhos, a ajuda e pela amizade.

Agradecer à toda a equipe do Laboratório Clínico Veterinário do HV UFPR-Palotina, importante para realização deste trabalho, dando o suporte necessário, além da amizade e apoio. Agradecendo às residentes Camila, Alana e Larissa, ao técnico Pedro e aos alunos Gustavo e William que me auxiliaram durante o projeto.

Também agradeço a equipe da Veterinária Hümmeblau, que permitiu o acompanhamento dos atendimentos, possibilitando a coleta de amostras, essenciais para o projeto, e assim, para Volmir, Rodrigo, Flávio, Dirceu e Eliane, meu agradecimento.

E por fim, agradecer a Universidade Federal do Paraná- Setor Palotina e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal, pela oportunidade de realizar o mestrado, e agradecer a CAPES, pela bolsa concedida durante o mestrado. Muito obrigado!

## RESUMO

No período de transição, parâmetros sanguíneos podem auxiliar na compreensão e monitoramento de doenças. O objetivo deste trabalho foi avaliar alterações sanguíneas, características clínicas e doenças concomitantes de vacas com hipocalcemia, metrite e metrite associada à cetose. Foram avaliadas 15 vacas com hipocalcemia clínica, com cálcio sérico  $<8\text{mg/dL}$ , resposta positiva ao tratamento e decúbito esternal ( $n=7$ ) ou lateral ( $n=8$ ). A metrite foi constatada em 26 vacas, pelo aumento de volume uterino e alteração de corrimento vaginal alterado, classificada em metrite leve ( $n=4$ ), moderada ( $n=17$ ) e grave ( $n=5$ ). Foi avaliada presença de retenção de placenta, mastite, cetose, deslocamento de abomaso e outras doenças, e na ausência destas afecções, a vaca foi considerada sadia, pertencendo ao grupo controle ( $n=20$ ). Vacas com metrite foram divididas em grupo com ( $n=13$ ) e sem cetose associada ( $n=13$ ). Foi avaliado número de dias pós-parto, número de partos, raça e ECC (1-5). O sangue foi coletado no primeiro mês pós-parto, para mensuração da concentração sanguínea de glicose, beta-hidroxibutirato, cálcio total, fósforo, magnésio, colesterol, triglicerídeos, ureia, creatinina, proteínas totais, albumina, globulinas, fibrinogênio, além da determinação das atividades séricas da AST, FA, GGT, CK, e realização do hemograma. Grupos hipocalcemia e metrite foram comparados ao grupo controle, e também comparados os grupos metrite com e sem cetose associada, através do Teste-t não pareado e teste de Mann Whitney ( $p<0,05$ ). Resultados de vacas com metrite e hipocalcemia foram comparados a intervalos de referência. Foram avaliadas correlações através de coeficiente de Pearson e correlação de Spearman ( $p<0,05$ ). A hipocalcemia clínica ocorreu nos primeiros dias após o parto, afetou vacas a partir da terceira lactação e a raça Jersey e seus cruzamentos tiveram correlação com menores concentrações séricas de cálcio e fósforo. O grupo hipocalcemia apresentou redução das concentrações séricas de cálcio, fósforo e colesterol; presença de indicadores de desidratação como policitemia, hiperproteinemia, hiperalbunemia e azotemia. A hiperglicemia e a leucocitose por neutrofilia foram comuns, podendo ser consequência do aumento do cortisol. O aumento de CK indicou lesão muscular, alteração comum devido ao decúbito. A hipocalcemia clínica foi associada a outras doenças, como mastite (47%), retenção de placenta (20%) e cetose tipo 2 (13%). A metrite afetou vacas nas primeiras três semanas após o parto. Os quadros menos graves de metrite foram mais associadas ao histórico de distocia e se manifestaram com maior número de dias após o parto, levando principalmente à neutrofilia e hiperglobulinemia. Já quadros mais graves foram associados principalmente à retenção de placenta, manifestando-se mais próximos ao parto, levando principalmente à neutropenia e desvio à esquerda. Houve também hiperfibrinogenemia e hipoalbuminemia, sugestivos do quadro inflamatório, além de redução das concentrações de cálcio, fósforo e magnésio no grupo metrite. A associação da cetose e metrite foi comum (50%), principalmente em vacas da raça Jersey e com ECC mais alto, levando ao aumento de beta-hidroxibutirato e redução de glicose e fósforo. Houve também aumento do hematócrito, hemoglobina e creatinina, que sugerem desidratação e, houve aumento de atividade sérica da AST e CK, sugerindo lesão hepática e maior catabolismo muscular, respectivamente.

Palavras chave: Hemograma; Exames bioquímicos; Cálcio; Beta-hidroxibutirato; Cetose.



## ABSTRACT

In the transition period, blood parameters can assist in the understanding and monitoring of diseases. The aim of this study was to evaluate blood changes, clinical characteristics and concomitant diseases in cows with hypocalcemia, metritis and metritis associated with ketosis. Fifteen cows with clinical hypocalcemia, with serum calcium  $<8\text{mg / dL}$ , positive response to treatment and sternal ( $n=7$ ) or lateral ( $n=8$ ) decubiturs were evaluated. Metritis was found in 26 cows, due to increased uterine volume and altered vaginal discharge, classified as mild ( $n=4$ ), moderate ( $n=17$ ) and severe ( $n=5$ ). The presence of retained placenta, mastitis, ketosis, displacement of the abomasum and other diseases were evaluated, and in the absence of these diseases, the cow was considered healthy, belonging to the control group ( $n=20$ ). Metritic cows were divided into groups with ( $n=13$ ) and without associated ketosis ( $n=13$ ). The number of days postpartum, number of deliveries, breed and ECC (1-5) were evaluated. Blood was collected in the first postpartum month to measure blood glucose, beta-hydroxybutyrate, total calcium, phosphorus, magnesium, cholesterol, triglycerides, urea, creatinine, total proteins, albumin, globulins, fibrinogen, to determine the serum activities of AST, FA, GGT, CK, and complete blood count. The hypocalcemia and metritis groups were compared to the control group, and the metritis groups with and without associated ketosis were also compared, using the unpaired T-test and Mann Whitney test ( $p<0.05$ ). Results from cows with metritis and hypocalcemia were compared at reference intervals. Correlations were assessed using Pearson's coefficient and Spearman's correlation ( $p<0.05$ ). Clinical hypocalcemia occurred in the first days after calving, affected cows from the third lactation, and the Jersey breed and their crossbreeding correlated with lower serum concentrations of calcium and phosphorus. The hypocalcemia group showed a reduction in serum concentrations of calcium, phosphorus and cholesterol; presence of dehydration indicators such as polycythemia, hyperproteinemia, hyperalbuminemia and azotemia. Hyperglycemia and leukocytosis due to neutrophilia were common, and may be due to an increase in cortisol. The increase in CK indicated muscle damage, a common change due to decubitus. Clinical hypocalcemia has been associated with other diseases, such as mastitis (47%), retained placenta (20%) and ketosis type 2 (13%). Metritis affected cows in the first three weeks after calving. Less severe metritis was more associated with a history of dystocia and manifested with a greater number of days after delivery, leading mainly to neutrophilia and hyperglobulinemia. More severe conditions were associated mainly with the placental retention, manifesting closer to delivery, leading mainly to neutropenia and left shift. There was also hyperfibrinogenemia and hypoalbuminemia, suggestive of the inflammatory condition, in addition to reduced concentrations of calcium, phosphorus and magnesium in the metritis group. The association of ketosis and metritis was common (50%), mainly in Jersey cows and with higher ECC, leading to an increase in beta-hydroxybutyrate and a reduction in glucose and phosphorus. There was also an increase in hematocrit, hemoglobin and creatinine, which suggest dehydration, and there was an increase in serum activity of AST and CK, suggesting liver damage and greater muscle catabolism, respectively.

Key words: Complete blood count; Biochemical tests; Calcium; Beta-hydroxybutyrate; Ketosis.

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO.....</b>	9
2	<b>OBJETIVOS.....</b>	10
2.1	OBJETIVO GERAL.....	10
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	10
3	<b>REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	11
3.1	PERÍODO DE TRANSIÇÃO.....	11
3.2	BALANÇO ENERGÉTICO NEGATIVO.....	12
3.3	CETOSE TIPO 1 E LIPIDOSE HEPÁTICA.....	15
3.4	RESISTÊNCIA À INSULINA E CETOSE TIPO 2.....	17
3.5	HIPOCALCEMIA.....	19
3.6	IMUNOSSUPRESSÃO.....	23
3.7	MASTITE, METRITE E RETENÇÃO DE PLACENTA.....	24
3.8	PERFIL METABÓLICO E PARÂMETROS SANGUÍNEOS.....	27
	REFERÊNCIAS.....	34
4	<b>CAPÍTULO 1 - HIPOCALCEMIA CLÍNICA DE OCORRÊNCIA NATURAL EM VACAS LEITEIRAS: ASPECTOS CLÍNICOS, DOENÇAS ASSOCIADAS E ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS .....</b>	46
4.1	INTRODUÇÃO.....	48
4.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	49
4.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	52
4.4	CONCLUSÃO.....	63
	REFERÊNCIAS .....	64



<b>5</b>	<b>CAPÍTULO 2 - METRITE DE OCORRÊNCIA NATURAL EM VACAS LEITEIRAS: ASPECTOS CLÍNICOS, DOENÇAS ASSOCIADAS E ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS.....</b>	<b>69</b>
5.1	INTRODUÇÃO.....	71
5.2	MATERIAL E MÉTODOS.....	72
5.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	75
5.4	CONCLUSÃO.....	91
	REFERÊNCIAS .....	91
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>99</b>
	<b>ANEXO 1 CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO PROJETO PELO CEUA/PALOTINA.....</b>	<b>115</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O período de transição, também chamado de período periparturiente, é uma fase extremamente importante para a vaca leiteira, que deve se adaptar às grandes alterações na demanda metabólica ao mesmo tempo em que ocorre redução de sua capacidade imunológica, elevando a ocorrência de doenças metabólicas e infecciosas. O período de transição se inicia três semanas antes e vai até três semanas após o parto, período no qual ocorre a fase final de crescimento fetal e o início da produção de colostro e leite.

Nas três semanas anteriores ao parto o consumo de matéria seca começa a ser reduzido, contudo, a demanda de energia e de cálcio serão aumentadas mais próximas ao momento do parto, havendo necessidade de mecanismos de adaptação do animal e, assim, a utilização de suas reservas corporais. Também ocorrem eventos como resistência à insulina, aumento do metabolismo oxidativo, aumento da resposta inflamatória e mudanças na dieta.

A falha em atender o aumento da demanda do cálcio resulta na hipocalcemia e o déficit energético, ou seja, o balanço energético negativo, pode levar à cetose. A redução da função imunológica pode ocorrer por fatores diversos, sendo um deles as alterações metabólicas, e a imunossupressão predispõe às doenças infecciosas, por exemplo a metrite e a mastite que são extremamente comuns em vacas leiteiras.

A relação entre as alterações metabólicas, imunológicas e inflamatórias do período de transição é complexa, e tem sido estudada, buscando melhor compreensão desta interação. A avaliação do perfil energético, mineral, proteico, inflamatório e hepático pode ser feita através de parâmetros sanguíneos, pois a avaliação destes parâmetros traz informações sobre as doenças metabólicas e infecciosas.

As afecções relacionadas ao período de transição podem se apresentar de forma clínica ou subclínica. A maioria das pesquisas já realizadas avaliou as formas subclínicas, no entanto, o presente estudo considerou os animais com manifestações clínicas presentes, a fim de relacionar as diferentes alterações ou determinar alterações de maior intensidade nos parâmetros sanguíneos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar as alterações hematológicas e bioquímicas em vacas com doenças metabólicas e infecciosas durante o período de transição, além de relacioná-las com características clínicas e doenças concomitantes.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Avaliar as alterações hematológicas e bioquímicas de vacas com hipocalcemia durante o período de transição, além de relacioná-las com características clínicas e doenças concomitantes.

Avaliar as alterações hematológicas e bioquímicas de vacas com metrite durante o período de transição, além de relacioná-las com características clínicas e doenças concomitantes.

Comparar as alterações hematológicas, bioquímicas e as características clínicas de vacas com metrite associada à cetose.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 PERÍODO DE TRANSIÇÃO

O período entre três semanas antes e três semanas após o parto é definido como período de transição, caracterizado por grandes mudanças endócrinas e metabólicas, e compreende eventos importantes como a fase final da gestação, a redução da ingestão de matéria seca, o início da produção de leite e o parto (GRUMMER, 1995).

Na transição do fim da gestação ao início da lactação podem ocorrer diversas doenças infecciosas e metabólicas, como a hipocalcemia, cetose, retenção de placenta, metrite, mastite e deslocamento de abomaso, as quais tem grande impacto negativo na produtividade e saúde da vaca leiteira (DRACKLEY, 1999). Cerca de 30 a 50% das vacas tem seu metabolismo alterado ou são acometidas por alguma doença infecciosa no período de transição (LEBLANC, 2010), e isso justifica porque cerca de 75% das doenças que afetam as vacas leiteiras, ocorrem no primeiro mês após o parto (LEBLANC et al., 2006).

As doenças relacionadas ao período periparturiente refletem a incapacidade da vaca em se adaptar às alterações metabólicas, uma vez que a produção de leite gera grande demanda de nutrientes, que pode não ser suprida pela ingestão de alimentos, necessitando a mobilização de reservas corporais. Além disso, mudanças alimentares repentinas e imunossupressão também ocorrem no período (MULLIGAN e DOHERTY, 2008). Assim, é necessário que a vaca se adapte à dieta com maior densidade energética, e mantenha a normocalcemia e a eficácia do sistema imunológico durante este período (GOFF e HORST, 1997).

Quanto aos desafios da vaca durante a transição, estes ocorrem em diferentes intensidades e dependem da capacidade de adaptação da vaca, sendo que as alterações que afetam praticamente todas as vacas leiteiras são o balanço energético negativo, a redução no consumo de matéria seca (CMS), a perda de peso e lipólise, período de resistência à insulina, redução na calcemia, redução na capacidade imunológica e contaminação uterina por bactérias (LEBLANC, 2010).

### 3.2 BALANÇO ENERGÉTICO NEGATIVO

O grande aumento das necessidades energéticas, proteicas e de outros nutrientes para atender às exigências para gestação e lactação, requer alterações metabólicas da vaca leiteira (BELL, 1995). Ocorre então, a regulação metabólica denominada homeorrese, na qual, o metabolismo de diversos tecidos se altera para disponibilizar os nutrientes principalmente para o feto, membranas fetais, útero e glândula mamária. Os requerimentos nutricionais no final da gestação são aproximadamente 75% mais altos, comparados aos requerimentos de manutenção de animal não gestante, e a demanda por glicose e aminoácidos nos últimos dois meses da gestação equivale a produção de três a seis litros de leite (BAUMAN e CURRIE, 1980).

A produção de colostro e de leite aumenta ainda mais a demanda de energia e de outros nutrientes, se comparada à da gestação e, assim, a homeorrese ocorre de maneira mais intensa (BAUMAN e CURRIE, 1980), sendo que a demanda de nutrientes para a produção de colostro supera a demanda para o feto (GOFF e HORST, 1997), e em quatro dias de lactação, a necessidade energética para a produção de leite chega a três vezes a demanda do útero no final da gestação (BELL, 1995).

O aumento das necessidades nutricionais ocorre no momento que o consumo de matéria seca (CMS) está diminuído (GRUMMER, 1995). Durante as três últimas semanas de gestação o consumo reduz gradualmente, com queda mais intensa na última semana, atingindo a maior redução, de cerca de 30 a 40% do CMS próxima ao parto (BERTICS et al., 1992; VAZQUEZ-AÑON et al., 1994; GRUMMER, 1995; INGVAARTSEN e ANDERSEN, 2000; HAYIRLI et al., 2002; GRUMMER et al., 2004). Diversos fatores parecem estar envolvidos na diminuição do consumo de alimentos, sendo propostos fatores hormonais e fatores relacionados a redução da capacidade ruminal, que diminui devido ao crescimento fetal e compressão do rúmen pelo útero gravídico (INGVAARTSEN e ANDERSEN, 2000; PEEK e DIVERS, 2008). Quanto aos hormônios, o estrógeno parece ser o principal hormônio envolvido na redução do consumo de matéria seca (GRUMMER, 1993; FORBES, 1987), sendo descrito que a administração de estrógenos é capaz de reduzir o CMS em vacas (GRUMMER et al., 1990) e em outras espécies (TARTTELIN e GORSKI, 1973).

O consumo de matéria seca aumenta gradativamente no período após o parto, porém a produção de leite aumenta de maneira mais rápida e intensa (BAUMAN e CURRIE, 1980; HERDT, 1988; INGVARTSEN e ANDERSEN, 2000; BERTONI e TREVISI, 2008; GROSS et al., 2011). Segundo o National Research Council (1989, apud NATIONAL RESEARCH COUNCIL, 2001), o pico de produção de leite ocorre de quatro a oito semanas após o parto e o pico de CMS acontece mais tarde, de 10 a 14 semanas após o parto. Assim, a demanda de nutrientes, principalmente por energia, é maior que a quantidade ingerida, caracterizando o balanço energético negativo (BEN) (EDDY, 2004; GROSS, et al., 2011; WANKHADE et al., 2017).

O BEN leva à mobilização de reservas corporais, principalmente das reservas de gordura, para atender a demanda energética (BAUMAN e CURRIE, 1980; HERDT, 2000; EDDY, 2004). O BEN no período após o parto é fisiológico em intensidade moderada (EDDY, 2004; INGVARTSEN, 2006), entretanto, em maior intensidade pode levar a doenças metabólicas (WANKHADE et al., 2017).

A demanda de glicose aumenta muito durante o período de transição (GONZÁLEZ et al., 2014; GOFF, 2015b), pois a glicose é nutriente essencial para o crescimento fetal e produção de leite (BELL e BAUMAN, 1997), já que é a principal fonte de energia ao feto (BAUMAN e CURRIE, 1980) e necessária para síntese de lactose, carboidrato que exerce a regulação osmótica no leite (BELL e BAUMAN, 1997; BAUMAN, 2000).

Em contrapartida, para os ruminantes adultos a quantidade de glicose absorvida é pequena, pois os carboidratos ingeridos na dieta passam por fermentação microbiana nos pré-estômagos e, assim, o ruminante depende da constante gliconeogênese hepática (HERDT, 1988; BELL e BAUMAN, 1997; HERDT e SAYEGH, 2014b). Alguns tecidos corporais como cérebro, eritrócitos, medula renal e epitélio intestinal dependem da glicose, sendo a fonte energética preferencial (KOZLOSKI, 2011). Todavia, mesmo com a intensa e contínua síntese, em consequência da pequena absorção de glicose, a glicemia dos ruminantes é menor quando comparada a animais não ruminantes (HAYIRLI, 2006; GOFF, 2015b).

Na fermentação microbiana, os micro-organismos ruminais produzem ácidos graxos voláteis (AGV), os quais são absorvidos e tornam-se fontes energéticas disponíveis para os ruminantes, representando cerca de 60 a 80% da energia

dietética, sendo os principais AGV o acetato, o propionato e o butirato (HERDT e SAYEGH, 2014a; GOFF, 2015c).

O propionato é o principal substrato para a síntese de glicose (HERDT, 1988; HERDT, 2000) sendo convertido a succinato, que é intermediário do ciclo de Krebs, e pode ser convertido a oxaloacetato, importante substrato para a gliconeogênese (HERDT e SAYEGH, 2014b). O fígado é o principal responsável pela gliconeogênese, e além do propionato, outros compostos podem ser substrato para esta via, como o lactato, o glicerol e aminoácidos (HERDT, 1988). Os outros dois AGV, acetato e butirato, não podem ser utilizados diretamente para a gliconeogênese (HERDT e SAYEGH, 2014b).

As mudanças endócrinas e a redução no CMS na fase final de gestação levam à mobilização de gordura do tecido adiposo (GRUMMER, 1995). Além disso, o menor CMS associado à alta demanda de glicose, diminui a glicemia e os níveis de insulina, estimulando a lipólise (SORDILLO e RAPHAEL, 2013).

O tecido adiposo é a principal reserva corporal de energia, armazenada na forma de triglicerídeos, que são quebrados em ácidos graxos não esterificados (AGNE), liberados no sangue (HERDT, 2000) e utilizados como fonte energética principalmente pelo tecido muscular e hepático (GOFF, 2015b). Entretanto, os ácidos graxos são utilizados apenas como fonte de energia, não podendo ser convertidos em glicose (HERDT, 1988). Estes AGNEs sofrem beta-oxidação, produzindo energia e grande quantidade de acetil-CoA, que pode entrar no ciclo de Krebs ou seguir outras vias metabólicas (GONZÁLEZ et al., 2014). Além disso, na quebra dos triglicerídeos também é liberado o glicerol, que pode ser utilizado como substrato para a gliconeogênese (HERDT, 1988).

Durante o período de balanço energético negativo, além da gordura, ocorre mobilização de reservas corporais de proteína (FLEMING, 2015) e, o músculo é a principal reserva de proteína no organismo, fornecendo aminoácidos que podem ser utilizados na gliconeogênese, para manter a glicemia (HERDT, 2000).



### 3.3 CETOSE TIPO 1 E LIPIDOSE HEPÁTICA

O balanço energético negativo leva a lipólise e aumento significativo dos AGNE no sangue, e a captação desses AGNE pelo fígado é proporcional à sua concentração sanguínea (KOZLOSKI, 2011), sendo que o passo inicial da cetose é a alta mobilização de AGNE (BAIRD, 1982), e ao serem quebrados, os AGNE geram grandes quantidades de acetil-CoA (WHITE, 2015).

O ciclo de Krebs ou ciclo dos ácidos tricarboxílicos é a via metabólica de oxidação de carbono para produção de energia e o acetil-CoA é substrato para esta via (HERDT e SAYEGH, 2014b). O oxaloacetato é o principal regulador da velocidade do ciclo de Krebs (GONZÁLEZ et al., 2014), sendo assim, para a eficiente oxidação do acetil-CoA é necessário suprimento adequado de oxaloacetato, pois a disponibilidade de oxaloacetato permite entrada de acetil-CoA no ciclo de Krebs para produção de energia (BAIRD, 1982; FLEMING, 2015). Além da energia, o ciclo de Krebs pode fornecer intermediários para a gliconeogênese, através da utilização dos carbonos do oxaloacetato (WHITE, 2015).

A exigência de glicose no período de transição aumenta o uso do oxaloacetato para gliconeogênese, o que diminui sua disponibilidade no ciclo de Krebs para oxidação da acetil-CoA, fator determinante para o desenvolvimento da cetose (BAIRD et al., 1968; GONZÁLEZ et al., 2014). Além da menor capacidade de oxidação de acetil-CoA no ciclo de Krebs, a oxidação hepática dos AGNE, através da beta-oxidação, libera grande quantidade de acetil-CoA que não é completamente oxidada e, o excesso de acetil-CoA, acaba sendo convertido em corpos cetônicos (GOFF e HORST, 1997; GOFF, 2015b, WHITE, 2015).

Os corpos cetônicos são formados a partir de duas moléculas de acetil-CoA, e os três principais corpos cetônicos são o acetoacetato, beta-hidroxibutirato (BHB) e a acetona (BERGMAN, 1971; HERDT, 1988), que são utilizados como fonte energética, por órgãos como coração, músculo, rins e glândula mamária (HERDT, 1988; FLEMING, 2015; WHITE, 2015). Embora seja fonte energética, existe limite na sua utilização e o excesso de corpos cetônicos circulantes tem efeitos negativos na saúde e produtividade da vaca (WHITE, 2015). O excesso de corpos cetônicos nos tecidos e fluidos corporais, detectados em concentrações aumentadas no sangue,

leite e urina, caracteriza a cetose (BERGMAN, 1971; GOFF e HORST, 1997; FLEMING, 2015).

A alta demanda de glicose acarreta hipoglicemia e hiperacetonemia, caracterizando a cetose tipo 1 (HOLTENIUS e HOLTENIUS, 1996). Nesta forma, ocorre suprimento insuficiente de precursores para a gliconeogênese (HERDT, 2000), e a hipoglicemia prolongada em conjunto com a falta de precursores de glicose, leva aos baixos níveis de insulina (OETZEL, 2007), portanto esta é a forma hipoglicêmica e hipoinsulinêmica (HOLTENIUS e HOLTENIUS, 1996).

A baixa relação insulina/glucagon e o aumento da lipólise são requisitos para a cetose (HOLTENIUS e HOLTENIUS, 1996). A cetose tipo 1 acontece geralmente entre a terceira e a sexta semanas de lactação, no momento de alta demanda energética para produção de leite, próxima ao pico de lactação, e em consequência do tempo prolongado de mobilização de reservas corporais, as vacas geralmente apresentam-se magras (HERDT, 2000; OETZEL, 2007; GONZÁLEZ et al., 2014).

Vacas com cetose podem apresentar manifestações clínicas como diminuição do apetite, redução na produção de leite, perda de peso (BAIRD, 1982), motilidade ruminal diminuída, presença de odor cetônico no ar exalado e leite (FLEMING, 2015), a frequência cardíaca, a frequência respiratória e a temperatura retal geralmente estão normais. Conforme o grau de hipoglicemia, o aumento das concentrações de corpos cetônicos e o aumento do produto de seu catabolismo, o isopropanolol, podem ocorrer manifestações neurológicas, que incluem alterações de comportamento, mastigação sem conteúdo, andar em círculos, pode haver alteração na visão e incoordenação motora (GONZÁLEZ et al., 2014). O lamber compulsivo, tanto de objetos como sozinho e o comportamento agressivo, são manifestações nervosas bem comuns, além disso, a ataxia e incapacidade de se levantar podem ser secundários a hipoglicemia (PEEK e DIVERS, 2008).

A cetose subclínica é definida como a condição em que existe aumento nas concentrações sanguíneas de corpos cetônicos sem outras manifestações clínicas da cetose (ANDERSSON, 1988). A cetose subclínica é considerada quando as concentrações de BHB sanguíneo entre 1,2 e 2,9mmol/L (MCART et al., 2011), sendo que acima de 3,0mmol/L é considerado cetose clínica (OETZEL, 2004; OETZEL, 2007; MCART et al., 2011), outros autores consideram cetose subclínica acima de

1,4mmol/L (OETZEL, 2004; OETZEL, 2007). São utilizados diversos pontos de corte de concentrações para definir cetose e para predizer o risco de desenvolver outras enfermidades, porém 1,2mmol/L e 1,4mmol/L são os principais (DUFFIELD et al., 2009), entretanto, é importante considerar que existe variação individual, quanto a sensibilidade, variando a concentração de corpos cetônicos e o aparecimento de manifestações clínicas (ANDERSSON, 1984). Na cetose a glicemia pode estar diminuída, entre 20 e 40 mg/dL (GONZÁLEZ et al., 2014; FLEMING, 2015).

O fígado ressintetiza os triacilgliceróis a partir dos AGNE que são secretados na circulação associados a outros componentes lipídicos e proteicos, complexo denominado lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). No entanto, a capacidade do bovino em sintetizar o VLDL é limitada, e assim, quando é excedida a capacidade de oxidar AGNE, de produzir corpos cetônicos e na ocorrência de maior síntese de triacilgliceróis do que sua hidrólise e exportação, os triacilgliceróis são acumulados nos hepatócitos, caracterizando o quadro de lipidose hepática (GRUMMER, 1993; KOZLOSKI, 2011; FLEMING, 2015; GOFF, 2015b). O acúmulo dos triglicerídeos nos hepatócitos prejudica suas funções, como a realização de gliconeogênese, tornando a vaca ainda mais susceptível à cetose (GRUMMER, 1993; MULLIGAN e DOHERTY, 2008; GOFF, 2015b).

A lipidose hepática ocorre principalmente em vacas obesas, com mobilização muito intensa de gordura após o parto, e em vacas com mobilização prolongada associada à cetose (PEEK e DIVERS, 2008), entretanto, a cetose tipo 1 não ocorre tão associada ao fígado gorduroso (HERDT, 2000), havendo menor risco e intensidade de infiltração gordurosa, pois ocorre maior síntese de corpos cetônicos e menor de triacilgliceróis (HOLTENIUS e HOLTENIUS, 1996).

### 3.4 RESISTÊNCIA À INSULINA E CETOSE TIPO 2

A resistência à insulina é o estado no qual concentrações normais de insulina geram menor resposta biológica, pela menor sensibilidade ou menor responsividade à insulina, ou mesmo ambas, e que pode ocorrer tanto de forma fisiológica como patológica (KAHN, 1978; DE KOSTER e OPSOMER, 2013).

A insulina é um hormônio liberado pelo pâncreas endócrino que atua em diversas vias do metabolismo. Sua ação estimula a redução das concentrações sanguíneas de glicose, ácidos graxos e aminoácidos, pelo estímulo da captação celular e conversão em formas de armazenamento intracelular. Quanto ao metabolismo da glicose, a utilização celular é facilitada, aumentando a síntese de glicogênio e diminuindo a gliconeogênese (GRECO e STABENFELDT, 2014).

A fim de atender a demanda de glicose, ocorre resistência à insulina durante o final da gestação e início da lactação, através de mudanças homeorréticas, com diversas alterações hormonais, como nas concentrações de estrógeno, lactógeno placentário, prolactina, cortisol e somatotropina. A menor sensibilidade e responsividade à insulina, faz com que tecidos que são insulino-dependentes para a captação de glicose, devido a características de seus transportadores, como o tecido adiposo e muscular, reduzam seu uso, aumentando a disponibilidade de glicose para tecidos insulino-independentes, como a placenta e a glândula mamária. Este mecanismo permite que a glicose seja suficiente para atender às exigências para o crescimento fetal e produção de leite (BELL e BAUMAN, 1997; HAYIRLI, 2006). A resistência à insulina é necessária no período de transição (DE KOSTER e OPSOMER, 2013), sendo que já foi demonstrado em estudo, que vacas com maior produção de leite apresentaram maior intensidade de resistência à insulina (CHAGAS et al., 2009).

A resistência à insulina está ligada a cetose tipo 2 (CUIYU et al., 2019), esta forma de hiperacetonemia difere da cetose tipo 1, pois está associada a hiperglicemia e hiperinsulinemia (HOLTENIUS e HOLTENIUS, 1996), e assim, ocorre elevação da concentração de corpos cetônicos, AGNE e insulina, e a glicemia está normal ou aumentada (CUIYU et al., 2019). A cetose tipo 2 ocorre de maneira mais precoce, inclusive antes do pico de produção de leite (HERDT, 2000), na primeira e segunda semanas de lactação, e afeta geralmente vacas obesas, que tendem a mobilizar mais rapidamente grandes quantidades de gordura, devido ao balanço energético negativo (GONZÁLEZ et al., 2014).

Vacas com alto escore de condição corporal, tendem a mobilizar mais gordura, perdendo mais peso no início da lactação, levando ao aumento acentuado nas concentrações de AGNE e BHB (SORDILLO e RAPHAEL, 2013). O alto escore corporal é fator de risco para cetose (VANHOLDER et al., 2015), pois as vacas com

alto escore tem menor consumo de matéria seca, e assim, balanço energético negativo mais exacerbado (GARNSWORTHY e TOPPS, 1982).

A obesidade aumenta a resistência à insulina (OETZEL, 2007; CUIYU et al., 2019), e a resistência à insulina e a quantidade de tecido adiposo são fatores que aumentam a intensidade da lipólise, desta forma, animais obesos respondem com lipólise mais intensa, gerando maiores quantidades de AGNE (HERDT, 2000). Para Wu et al. (2020), vacas com maior escore de condição corporal apresentaram maior concentração de AGNE, maior resistência à insulina e maior acúmulo de triglicerídeos no fígado. A indução de hiperlipidemia em vacas leiteiras, tanto com triacilgliceróis como AGNE, induziu maior grau de resistência à insulina, evidenciando que a própria lipomobilização, influencia a resistência à insulina, e o tecido adiposo aumenta ainda mais a concentração de AGNE, retroalimentando um ciclo que leva a distúrbios metabólicos (PIRES et al., 2007).

A resistência à insulina pode não estar presente no momento em que a cetose se manifesta, mas pode ser um fator desencadeante (OETZEL, 2007), sendo que a hiperglicemia e hiperinsulinemia podem ser transitórias e preceder as manifestações clínicas da cetose (HERDT, 2000; GONZÁLEZ et al., 2014).

A cetose tipo 2 está associada à lipidose hepática, pois neste quadro de cetose grandes quantidades de AGNE chegam ao fígado, ocorre baixa taxa de exportação de triacilgliceróis e menor capacidade de produção de corpos cetônicos, que atingem menores concentrações quando comparados à cetose tipo 1 (HERDT, 2000). Na cetose tipo 2 as taxas de gliconeogênese são baixas (GONZÁLEZ et al., 2014), e a lipidose hepática compromete ainda mais esta função (OETZEL, 2007).

### 3.5 HIPOCALCEMIA

A transição do estado não lactante para lactante cria grande desafio para a vaca, aumentando de maneira intensa e aguda a demanda de cálcio (GOFF, 2006a; GOFF, 2008). O cálcio é necessário para o crescimento fetal e a produção de colostro e leite (PEEK e DIVERS, 2008). A manutenção da calcemia é um dos principais desafios para a saúde no período periparturiente (GOFF e HORST, 1997).

Para exemplificar, a produção de leite ou colostro pode gerar demanda de 20 a 30 g de cálcio por dia e uma vaca de 600 kg normocalcêmica, possui cerca de 12 g de cálcio disponível nos compartimentos extracelulares. Portanto, a demanda na lactação é superior a quantidade de cálcio disponível, sendo necessária ativação de mecanismos compensatórios (GOFF, 2000).

Dentre os mecanismos compensatórios para manter a normocalcemia, a vaca aumenta a retirada de cálcio dos ossos e a absorção do cálcio dietético (GOFF, 2004; GOFF, 2006a) todavia, se estes mecanismos falharem na obtenção de cálcio suficiente para suprir a demanda, ocorre a hipocalcemia (GOFF, 2015a).

Como as exigências de cálcio são menores antes do parto, os mecanismos de mobilização de cálcio de origem endógena não estão ativados suficientemente (SALAZAR et al., 2019). Desta forma, grande parte das vacas tem redução da calcemia nas primeiras 12 a 24 horas depois do parto, e para alguns animais isso ocorre de maneira mais intensa, com maior redução do cálcio plasmático, levando à apresentação de manifestações clínicas de hipocalcemia (GOFF et al., 1991; GOFF, 2015a).

Em resposta à redução da concentração de cálcio, a glândula paratireóide libera o paratormônio, o qual aumenta a calcemia através da maior reabsorção de cálcio pelos rins e da estimulação da ativação da vitamina D, que aumenta a absorção de cálcio no intestino. Além disso, nos ossos, o paratormônio estimula a mobilização de cálcio (GOFF, 2000; GOFF, 2004; GOFF, 2006a), pelo aumento da atividade dos osteoclastos, e consequente reabsorção óssea com liberação de cálcio no sangue (PEEK e DIVERS, 2008). Cerca de 99% do cálcio corporal está nos ossos, na forma inorgânica, o restante está nas células e espaço vascular, sendo que 55% na forma ionizável, disponível para uso celular, 40 a 45% do cálcio sanguíneo encontra-se ligado à albumina e cerca de 5% em outras formas (SALAZAR et al., 2019). Assim, por ser grande reserva de cálcio, a mobilização óssea é extremamente importante para manutenção da calcemia (GRECO e STABENFELDT, 2014).

A ineficiência do paratormônio parece ser o principal fator causador da hipocalcemia (GOFF, 2015a). A ação do paratormônio é dependente do estado ácido-básico e da concentração de magnésio sanguíneo. A alcalose metabólica e a

hipomagnesemia reduzem a ação do paratormônio, sendo provavelmente a alcalose metabólica o principal fator (PEEK e DIVERS, 2008; GOFF, 2015a).

A interação entre o paratormônio e seus receptores é essencial para manutenção da calcemia. Em consequência da alcalose metabólica parece ocorrer alteração da conformação dos receptores, e desta forma, a interação com o paratormônio não é adequada, e assim, os tecidos apresentam resposta diminuída (GOFF, 2008). A hipomagnesemia reduz a sensibilidade dos receptores ao paratormônio e, também, diminui a secreção de paratormônio na presença de hipocalcemia (GOFF, 2006a).

A alcalose metabólica ocorre em dietas catiônicas, e assim, no pré-parto uma das principais formas de prevenção da hipocalcemia é o fornecimento de dietas aniônicas, que possuem maior quantidade de ânions, contendo mais enxofre ( $S^{2-}$ ) e cloro ( $Cl^-$ ) do que os cátions, como potássio ( $K^+$ ) e sódio ( $Na^+$ ). Após a absorção, a maior concentração de ânions no sangue, faz com que mais íons hidrogênio ( $H^+$ ) sejam recrutados a este compartimento, a fim de manter a eletroneutralidade, reduzindo o pH sanguíneo e aumentando a eficácia do paratormônio (GOFF, 2004), e assim, ocorre mobilização mais eficiente de cálcio dos ossos e a absorção de cálcio da dieta, mantendo níveis sanguíneos de cálcio mais elevados (DEGARIS e LEAN, 2008).

A concentração sanguínea de magnésio ( $Mg^{++}$ ) é definida pela entrada através da absorção gastrointestinal e as saídas, por diversos eventos, como transporte celular, retenção nos ossos, secreções endógenas, crescimento fetal, produção de leite e excreção urinária (MARTÍN-TERESO e MARTENS, 2014), e a concentração plasmática é totalmente dependente da constante absorção de magnésio da dieta (GOFF, 2006a). Assim, a hipomagnesemia pode ocorrer pela insuficiente concentração de magnésio na dieta, pela menor absorção devido a biodisponibilidade da fonte de magnésio, alterações de pH ruminal, e ainda, pela maior concentração de potássio na dieta, que é antagonista da absorção de magnésio (GOFF, 2008; MARTÍN-TERESO e MARTENS, 2014).

A hipocalcemia também pode ser decorrente de fatores como a intensa redução de consumo de matéria seca próximo ao parto, com diminuição da quantidade de cálcio ingerida, e consequentemente menos cálcio disponível para



absorção (EDDY, 2004). Além disso, altas concentrações de fósforo na dieta podem inibir a ativação renal da vitamina D, que dificulta a absorção gastrointestinal de cálcio (GOFF, 2004; GOFF, 2006a).

O cálcio é essencial para várias funções no organismo, como reações intracelulares, ativação de enzimas, contração muscular, transmissão de impulsos nervosos, coagulação sanguínea, além de estar na composição de ossos e dentes (GRECO e STABENFELDT, 2014; GOFF, 2015a).

A redução da concentração de cálcio no sangue prejudica a função nervosa e muscular, levando a vaca ao decúbito, incapaz de se levantar, manifestação clínica importante da hipocalcemia clínica (GOFF, 2006b; GOFF, 2008), que na maioria dos casos ocorre de um a dois dias após o parto (GONZÁLEZ et al., 2014; GOFF, 2015a).

As manifestações clínicas da hipocalcemia em bovinos podem ser divididas em três estágios, no primeiro, o animal encontra-se em estação, porém atáxico, podendo demonstrar excitação e tetania. No segundo estágio, o animal encontra-se em decúbito esternal, podendo apresentar estase gastrointestinal e timpanismo ruminal. No terceiro estágio, o animal apresenta-se em decúbito lateral, com taquicardia intensa e hipofonese (RADOSTITIS et al., 2002).

A concentração sanguínea de cálcio é mantida em faixa estreita, de 8 a 10 mg/dL, e quando ocorre perda de cerca de 50% do cálcio circulante, aparecem manifestações de hipocalcemia, como decúbito (DEGARIS e LEAN, 2008). Com cerca de 7 mg/dL a vaca mantém-se em estação, mas pode ter timpanismo, redução do consumo de alimentos e ataxia, entre outras manifestações. Com cerca de 5 mg/dL atinge o decúbito persistente e com 4 mg/dL a vaca pode estar comatosa (PEEK e DIVERS, 2008; GOFF, 2015a).

Outros autores consideram que vacas com redução menos intensa na calcemia, sem decúbito, apresentam hipocalcemia subclínica. Contudo, esta redução da calcemia tem outros impactos, como a redução da contração muscular do trato gastrointestinal, que diminui o consumo de matéria seca, exacerbando o balanço energético negativo e a mobilização lipídica, favorecendo a ocorrência de cetose. O preenchimento ruminal e a motilidade abomasal também ficam reduzidos, que associado a outros fatores do pós-parto, predispõem ao deslocamento de abomaso. Ocorre também redução na capacidade imunológica, a qual, associada à menor contração muscular que dificulta o fechamento do esfíncter do teto e reduz a

motilidade uterina, favorecem a ocorrência de mastite e metrite, respectivamente. Ou seja, a hipocalcemia favorece outras doenças tanto metabólicas quanto infecciosas e tem grande impacto na produtividade da vaca (GOFF e HORST, 1997; GOFF, 2006b; MULLIGAN et al., 2006; GOFF, 2008).

Diversos autores consideram 8mg/dL como limiar mínimo de cálcio sérico total, sendo que, vacas com concentrações abaixo deste limiar e sem apresentação de manifestações clínicas como o decúbito, são consideradas vacas com hipocalcemia subclínica (MULLIGAN et al., 2006; GOFF, 2008; REINHARDT et al., 2011; GOFF, 2015a; VENJAKOB et al., 2017). Todavia, outros autores avaliaram os limiares de cálcio sérico total, encontrando que vacas com concentrações de cálcio abaixo de 8,6 mg/dL tem comprometimento de funções imunológicas e, conseqüentemente, maior risco de desenvolver metrite, e portanto este valor também pode ser utilizado como ponto de corte para a hipocalcemia subclínica (MARTINEZ et al., 2012; NEVES et al., 2018).

### 3.6 IMUNOSSUPRESSÃO

No período de transição as vacas podem passar por uma fase de imunossupressão (INGVARTSEN e MOYES, 2015), pois ocorrem alterações hormonais e metabólicas que diminuem a capacidade imunológica das vacas, tornando-as mais susceptíveis à doenças infecciosas (MULLIGAN e DOHERTY, 2008; PYÖRÄLÄ, 2008; LEBLANC, 2010; LEBLANC, 2020).

Dentre os fatores que influenciam na imunossupressão, tem-se o cortisol, hormônio que tem suas concentrações sanguíneas aumentadas neste período, pois faz parte do processo fisiológico de parto (DAVIDSON e STABENFELDT, 2014). O cortisol tem efeito negativo na capacidade imunológica, e assim, pode aumentar o risco de doenças infecciosas (BURTON et al., 2005).

As alterações metabólicas como a hipocalcemia (MARTINEZ et al., 2012) e o balanço energético negativo (HAMMON et al., 2006; GIULIODORI et al., 2013) também têm efeito negativo no sistema imune. Substratos energéticos como a glicose, que é fonte energética para células do sistema imune, estão menos disponíveis no período pós-parto, o que pode reduzir a função imunológica. Ainda, o aumento das

concentrações de AGNE e corpos cetônicos, também têm impacto negativo na função imune (INGVARTSEN e MOYES, 2015).

### 3.7 MASTITE, METRITE E RETENÇÃO DE PLACENTA

Com o sistema imune debilitado no período de transição, a vaca torna-se mais susceptível à doenças infecciosas como metrite e mastite, uma vez que ocorre comprometimento dos mecanismos de defesa da glândula mamária (BURVENICH et al., 2003; SORDILLO, 2018) e uterina (LEBLANC, 2012; GALVÃO, 2018).

A mastite é a inflamação da glândula mamária, que ocorre geralmente por causas infecciosas, principalmente por infecção bacteriana (BRADLEY, 2002; GONZÁLEZ et al., 2014; RUEGG et al., 2015; ADKINS e MIDDLETON, 2018).

Quando os patógenos entram pelo canal do teto e se multiplicam no leite, desencadeiam resposta imunológica, levando à inflamação na glândula mamária, e a intensidade desta resposta inflamatória determina as manifestações clínicas apresentadas (RUEGG et al., 2015). Existem diversos mecanismos de defesa teciduais, celulares e moleculares que são ativados para a destruição das bactérias, desta forma, dependendo da eficiência dos mesmos a infecção pode ser debelada sem alterações no leite ou na glândula mamária (SORDILLO, 2018). Os neutrófilos são a principal linha de defesa contra patógenos na glândula mamária, principalmente por fagocitar e destruir as bactérias (BURVENICH et al., 2003).

As características do patógeno, as condições ambientais e características da vaca, como a capacidade imunológica, influenciam na susceptibilidade à mastite e determinam o desenvolvimento da doença (BURVENICH et al., 2003). Desta maneira, a imunossupressão no período de transição é fator importante para ocorrência da mastite. Menores concentrações de cálcio diminuem a função dos neutrófilos (DUCUSIN et al., 2003; MARTINEZ et al., 2012; MARTINEZ et al., 2014), sendo assim, a hipocalcemia exacerba a imunossupressão e prejudica a contração do esfíncter do teto facilitando a contaminação bacteriana (GOFF e HORST, 1997; GOFF, 2008).

A mastite é caracterizada por alterações no leite, como mudanças na consistência, presença de grumos, coágulos e pus, entre outras. Podem ocorrer mudanças na glândula mamária, como edema, dor, aumento de temperatura e

vermelhidão, além disso, a vaca pode apresentar manifestações sistêmicas como febre, anorexia, redução na produção de leite, desidratação e decúbito. A mastite pode ser considerada subclínica quando há a presença de inflamação na glândula mamária, sem alterações visíveis, sendo detectada pelo aumento de células inflamatórias que resulta no aumento da contagem de células somáticas no leite (EDMONDSON e BRAMLEY, 2004; RUEGG et al., 2015; ADKINS e MIDDLETON, 2018).

O período após o parto, no início da lactação e o período de secagem da vaca são os momentos de maior ocorrência de mastite (EDMONDSON e BRAMLEY, 2004), com destaque para a alta incidência logo após o parto, principalmente na primeira semana (SVENSSON et al., 2006; MCDOUGALL et al., 2007; RIEKERINK et al., 2008; STEENEVELD et al., 2008).

A metrite é a inflamação de todas as camadas da parede uterina, sendo que, as doenças inflamatórias uterinas geralmente têm origem infecciosa, causadas principalmente por bactérias (FOSTER, 2013). No entanto, o termo metrite também pode ser usado muitas vezes de forma geral para as infecções uterinas pós-parto, com ou sem manifestações sistêmicas (HILLMAN e GILBERT, 2008).

Para Sheldon et al. (2006, 2008), pode-se classificar como metrite puerperal os casos que acontecem durante o período de até 21 dias após o parto, no qual o útero está anormalmente aumentado, com corrimento fétido e aquoso, de coloração vermelha e/ou acastanhada, e associado a manifestações sistêmicas, como febre, apatia, anorexia, menor produção de leite e desidratação. Ainda neste período, casos sem manifestações sistêmicas, mas com útero aumentado e secreção uterina purulenta, são denominados apenas como metrite.

A contaminação bacteriana do útero é comum nas duas primeiras semanas após o parto, sendo necessário que os mecanismos de defesa uterino e a resposta imunológica sejam capazes de debelar a infecção, pois ocorre constante recontaminação bacteriana no puerpério (SHELDON et al., 2008). O útero normal é capaz de eliminar esta infecção bacteriana, porém fatores que comprometam a função imune (LEBLANC, 2008) e a falha nos mecanismos de defesa, tornam o útero incapaz de eliminar a infecção bacteriana, levando à metrite (GALVÃO, 2018).

A retenção de placenta, distocias, lesões e contaminação bacteriana uterina durante o parto, além da atonia uterina secundária à hipocalcemia, são importantes condições predisponentes para a metrite (HILLMAN e GILBERT, 2008), e desta forma,

fatores relacionados ao animal, imunidade, ambiente uterino, número e patogenicidade das bactérias, determinam a ocorrência ou não da doença (SHELDON et al., 2008).

A metrite acomete cerca de 20% das vacas leiteiras (GALVÃO et al., 2011; GALVÃO, 2012), mas nas duas semanas após o parto até 45% das vacas podem apresentar infecção uterina (SHELDON et al., 2008). Sua ocorrência tem impacto produtivo e reprodutivo, com perdas na produção de leite, custos com assistência veterinária, medicamentos, descarte de leite, redução de fertilidade e descarte de vacas, entre outros (OVERTON e FETROW, 2008; MAHNANI et al., 2015).

A placenta é expulsa normalmente dentro de seis (SHELDON e DOBSON, 2004; SHELDON et al., 2008) até oito horas após o parto (HILLMAN e GILBERT, 2008, QU et al., 2014), e a retenção da mesma é caracterizada pela falha na expulsão da placenta por períodos prolongados, sendo considerados tempos de 12 horas (HILLMAN e GILBERT, 2008, GONZÁLEZ et al., 2014) e de 24 horas após o parto (KELTON et al., 1998; SHELDON et al., 2008). A retenção de placenta manifesta-se pelas membranas fetais protruídas pela cérvix, pelo canal vaginal ou pela vulva, sendo detectadas por palpação vaginal ou ficando expostas externamente (HILLMAN e GILBERT, 2008).

A placenta retida é uma importante fonte de infecção e de putrefação proteica no útero (SHELDON et al., 2004) e, a principal complicação da retenção de placenta é a metrite (HILLMAN e GILBERT, 2008). Diversos trabalhos relatam que a retenção de placenta aumentou o risco de metrite (HUZZEY et al., 2007; HOSSEIN-ZADEH e ARDALAN, 2011; PÉREZ-BÁEZ et al., 2019).

O processo de expulsão da placenta depende de alterações hormonais, imunológicas e enzimáticas que levam à maturação da placenta e à separação da união de carúnculas uterinas e cotilédones placentários que, somados às contrações uterinas, desfazem os placentomas e auxiliam na expulsão da placenta (SHELDON e DOBSON, 2004; SHELDON et al., 2008; BEAGLEY et al., 2010).

A retenção de placenta é multifatorial, predisposta por diferentes condições imunológicas, infecciosas, metabólicas e nutricionais, entre outras (LAVEN e PETERS, 1996; BEAGLEY et al., 2010; HILLMAN e GILBERT, 2008; GONZÁLEZ et al., 2014). Um fator importante, é que a retenção de placenta pode acontecer em consequência da imunossupressão (KIMURA et al., 2002; LEBLANC, 2008;

LEBLANC, 2020). A disjunção da união carúncula e cotilédone requer o influxo e a ação de células inflamatórias, e a falha na migração destas células pode levar à retenção de placenta (GUNNINK, 1984a; GUNNINK, 1984b; DAVIES et al., 2004; BEAGLEY et al., 2010; MORETTI et al., 2016), sendo que os neutrófilos atuam neste processo e, o comprometimento de suas funções pode levar à retenção de placenta (KIMURA et al., 2002; KIMURA et al., 2003). Além deste, outro fator é a hipocalcemia, que além de comprometer a capacidade imunológica (KIMURA et al., 2006; MARTINEZ et al., 2014), reduz a atividade de enzimas que atuam na separação carúncula e cotilédone (MELENDEZ et al., 2004) e reduz a contratilidade uterina, que é necessária para a expulsão da placenta (GOFF e HORST, 1997; LEBLANC, 2008).

### 3.8 PERFIL METABÓLICO E PARÂMETROS SANGUÍNEOS

O período pós-parto é complexo para a vaca leiteira, com redução na calcemia, balanço energético negativo, resistência à insulina e imunossupressão, entre outros eventos. Diante disso, compreender melhor a relação entre eles é fundamental, e a avaliação sanguínea fornece informações importantes que podem ser associadas às doenças e auxiliar no seu monitoramento (LEBLANC, 2010).

Muitos transtornos metabólicos são caracterizados pela alteração em parâmetros sanguíneos inicialmente, e depois a apresentação de manifestações clínicas. Diante disso, a avaliação de metabólitos sanguíneos auxilia no diagnóstico precoce dos transtornos metabólicos no rebanho, mesmo em animais sem manifestações clínicas evidentes (BOUDA et al., 2000; GONZÁLEZ et al., 2014).

Diversos trabalhos têm buscado entender melhor as alterações metabólicas, avaliando componentes sanguíneos relacionados com metabolismo energético, mineral, proteico, perfil hepático e inflamatório (BIONAZ et al., 2007; BERTONI et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2014; ALVARENGA et al., 2015; KAYANO e KIDA, 2015; PUTMAN et al., 2018), inclusive buscando associações dos parâmetros sanguíneos, com a condição nutricional (MAURYA e SINGH, 2016) e produção leiteira (CHAPINAL et al., 2012), além de prever a ocorrência de outras doenças do período de transição (CHAPINAL et al., 2011; OSPINA et al., 2010). Os testes sanguíneos são úteis tanto na avaliação nutricional quanto sanitária dos animais (VAN SAUN, 2006).

O hemograma compreende a avaliação de hemácias, leucócitos e plaquetas (WEISER, 2012b) e contribui com informações para diagnóstico e monitoramento de doenças, além de auxiliar no estabelecimento do prognóstico (ROLAND et al., 2014).

A avaliação dos eritrócitos traz importantes informações, sendo que a alteração mais comumente encontrada é na quantidade e/ou proporção de hemácias em relação ao plasma, ou ainda da concentração de hemoglobina. A redução desses parâmetros indica anemia que, nos bovinos, geralmente está ligada a quadros hemorrágicos e hemolíticos. O aumento desses parâmetros indica policitemia, geralmente relacionada com quadros de desidratação (ROLAND et al., 2014; SHARKEY e OVERMANN, 2015).

O número de plaquetas varia por diversos fatores. A trombocitopenia pode ocorrer por aumento do consumo, em hemorragias e na coagulação intravascular disseminada (CID); pela redução na produção medular; ou aumento na destruição. Já a trombocitose, pode ser secundária a exercícios, estresse, condições inflamatórias e deficiência de ferro (JONES e ALLISON, 2007; ROLAND et al., 2014).

Os leucócitos são células de defesa imunológica, que podem ser divididos em subpopulações, os neutrófilos, os linfócitos, os monócitos, os eosinófilos e os basófilos (ROLAND et al., 2014). Estas células estão envolvidas com a resposta inflamatória, e assim, dentre as formas de avaliação dos processos inflamatórios está o leucograma, que avalia os leucócitos em quantidade e morfologia, a fim de estabelecer o tipo de processo patológico (WEISER, 2012a).

Alterações no leucograma podem indicar doenças, sendo que, em ruminantes, doenças inflamatórias de caráter agudo e hiperagudo levam à neutropenia. A neutrofilia ocorre geralmente em doenças de gravidade leve a moderada e, algumas vezes, em processos crônicos (TORNQUIST e RIGAS, 2010). As quantidades sanguíneas de linfócitos e monócitos também são alteradas em consequência de processos inflamatórios e infecciosos, entre outros estímulos (JONES e ALLISON, 2007).

O leucograma pode indicar aumento das concentrações de cortisol e de epinefrina, caracterizando o leucograma de estresse e excitação, respectivamente, indicado através de alterações simultâneas nas quantidades dos diferentes leucócitos (JONES e ALLISON, 2007; TORNQUIST e RIGAS, 2010).

Durante o processo inflamatório são liberadas citocinas, as quais acabam alterando a síntese proteica hepática. As proteínas plasmáticas que têm suas



concentrações alteradas na inflamação, são denominadas proteínas de fase aguda (PFA) (HEINRICH et al., 1990; BAUMANN e GAULDIE, 1994; ACKERMANN, 2013; RECZYNSKA et al., 2018). As PFA são sintetizadas pelo fígado e suas concentrações podem aumentar ou diminuir durante a inflamação, e ainda, estas proteínas têm participação no processo inflamatório sendo, alguns exemplos, a proteína C reativa, a haptoglobina e o fibrinogênio (ACKERMANN, 2013), utilizados para diagnóstico e classificação de processos inflamatórios (PETERSEN et al., 2004).

O fibrinogênio é PFA positiva, ou seja, sua concentração eleva-se durante a inflamação, principalmente em bovinos e equinos. Esta proteína exerce função na cascata de coagulação, correspondendo a cerca de 5% da quantidade total de proteínas plasmáticas (ECKERSALL, 2008). A mensuração da concentração do fibrinogênio é comum para bovinos, sendo que, pode ser melhor indicador de doença inflamatória aguda, do que a avaliação pelo leucograma em algumas situações (JONES e ALLISON, 2007; TORNQUIST e RIGAS, 2010).

As globulinas são um grupo heterogêneo de proteínas, que inclui as imunoglobulinas, proteínas do sistema complemento, proteínas carreadoras e enzimas, entre outras. São sintetizadas principalmente pelo fígado, com exceção das imunoglobulinas, e assim, seus níveis podem aumentar em processos inflamatórios (ALLISON, 2012a), sendo a inflamação é a causa mais comum de hiperglobulinemia (BOUDA et al., 2000).

A albumina é a proteína sérica de maior concentração, totalizando 35% a 50% das proteínas, tendo como função a manutenção da pressão oncótica e transporte de metabólitos, entre outras. É produzida pelo fígado, sendo PFA negativa, pois suas concentrações diminuem durante a inflamação (ECKERSALL, 2008). Contudo, a deficiência proteica na dieta e a insuficiência hepática também podem reduzir a concentração de albumina (BOUDA et al., 2000).

O colesterol é um lipídeo encontrado apenas em animais, faz parte da composição de membranas celulares e é precursor de ácidos biliares e hormônios, como a vitamina D. É sintetizado principalmente pelo fígado (BRUSS, 2008), e em herbívoros, o colesterol deve ser totalmente sintetizado, pois não é obtido na dieta (RADIN, 2012), desta forma, caso o fígado tenha sua função comprometida pode haver hipocolesterolemia (ALLISON, 2012b).

Os triglicerídeos são lipídeos formados por três ácidos graxos ligados a uma molécula de glicerol, são armazenados no tecido adiposo, sendo ótima fonte de energia, com maior capacidade energética que carboidratos e proteínas, entretanto são insolúveis em água (HERDT e SAYEGH, 2014b). Desta forma, o transporte de lipídeos no sangue ocorre através de lipoproteínas, que são micelas compostas por triglicerídeos e colesterol na porção central e proteínas e fosfolipídios no exterior. São sintetizadas quase exclusivamente pelo fígado e intestino delgado e classificadas conforme sua densidade (BRUSS, 2008). As lipoproteínas com maior quantidade de triglicerídeos são os quilomícrons, sintetizados nos enterócitos e o VLDL, sintetizado nos hepatócitos (RADIN, 2012). Diante disso, as concentrações sanguíneas de triglicerídeos e colesterol indicam as quantidades de lipoproteínas circulantes (EVANS, 2011).

Em vacas com lipidose hepática a queda das concentrações sanguíneas de triglicerídeos é associada ao acúmulo dos triglicerídeos no fígado e menores concentrações sanguíneas de VLDL (VAN DEN TOP et al., 1995). A redução do colesterol sérico também pode indicar menor produção hepática de VLDL, com maior chance de acúmulo de gordura no fígado (VAN SAUN, 2006). Outro ponto importante é que, a redução no consumo de matéria seca e, conseqüentemente, a diminuição no total de lipídeos na dieta, também pode refletir em menores concentrações séricas de colesterol (BERTONI e TREVISI, 2013), e fisiologicamente, no período de transição ocorrem os menores valores de colesterol dentro do ciclo lactacional da vaca (KESSLER et al., 2014).

A avaliação hepática por meio de exames bioquímicos é dividida em três grupos de testes, enzimas que sugerem lesão em hepatócitos, enzimas que sugerem colestase e testes que avaliam a função hepática. A função hepática é avaliada através da mensuração da concentração de substâncias metabolizadas, excretadas ou substâncias sintetizadas pelo fígado, como a albumina, globulinas, ureia e colesterol, que podem ter concentrações diminuídas caso o fígado não as sintetize adequadamente. As enzimas de extravasamento aumentam suas atividades séricas caso ocorra lesão celular, que altere a membrana dos hepatócitos, indicando lesão hepatocelular e as enzimas de indução são produzidas em maior quantidade pelas células em resposta à colestase, liberando maior quantidade de enzimas para o soro (ALISSON, 2012).

A enzima aspartato aminotransferase (AST) é indicadora de lesão hepatocelular em ruminantes, aumentando sua atividade sérica em casos de doenças infecciosas, inflamatórias, tóxicas e metabólicas que afetam o fígado, inclusive nos casos de lipidose hepática. A AST também está presente no músculo, podendo elevar-se em casos de lesão muscular, assim, necessita avaliação de outras enzimas simultaneamente, como a gama-glutamil transferase (GGT) e a creatina quinase (CK). A CK é uma enzima específica do tecido muscular e, desta forma, só terá atividade sérica aumentada caso ocorram lesões musculares, que podem ser por decúbito prolongado, miopatias tóxicas e injeções intramusculares, entre outros (RUSSELL e ROUSSEL, 2007). O pico de elevação da CK é mais rápido que o da AST, que aumenta mais gradativamente, porém, a AST tem meia vida mais longa que a CK, e então, os valores de AST permanecem altos por mais tempo, e os de CK reduzem mais rapidamente (STÄMPFLI e OLIVER-ESPINOSA, 2015).

A obstrução ou interrupção do fluxo biliar é denominada colestase, que induz o aumento da liberação e, conseqüentemente, o aumento das atividades séricas das enzimas de indução GGT e fosfatase alcalina (FA) (BAIN, 2011). A GGT está presente em diversos tecidos, como rins, pâncreas, intestino, glândula mamária e fígado (HOFFMANN e SOLTER, 2008), e é considerada importante indicador de doenças hepatobiliares em ruminantes (RUSSELL e ROUSSEL, 2007). Seu aumento pode ocorrer em casos de lipidose hepática nas vacas leiteiras (STÄMPFLI e OLIVER-ESPINOSA, 2015). A GGT também pode ser liberada pela lesão celular, e o fígado de ruminantes tem maiores concentrações de GGT quando comparado ao de outras espécies (HOFFMANN e SOLTER, 2008).

A FA está presente no fígado, na placenta, nos ossos, rins, intestino e pâncreas (HOFFMANN e SOLTER, 2008; ALISSON, 2012), podendo aumentar devido à colestase, porém em ruminantes é menos utilizada que a GGT, uma vez que possui um amplo intervalo de referência, tornando esta enzima um indicador menos sensível (BAIN, 2011). A FA pode ser produzida em resposta à exposição a certos fármacos, como os corticosteróides e, além disso pode aumentar quando há maior atividade osteoblástica (ALISSON, 2012), com reabsorção óssea ativa, e ainda em fêmeas prenhas, no final de gestação (BAIN, 2011).

A ureia e a creatinina são indicadores da taxa de filtração glomerular, sendo excretadas pelo rim. A creatinina é produto da degradação da creatina no metabolismo

muscular. Já a ureia é sintetizada no fígado, a partir da amônia, produto do metabolismo proteico, e assim, a concentração deste metabólito é influenciado por vários fatores, como função hepática, reciclagem de ureia no rúmen (RUSSELL e ROUSSEL, 2007), composição da dieta, degradação do tecido muscular e função renal (VAN SAUN, 2006), fazendo com que a creatinina seja mais útil e fidedigna para avaliação da função renal (RUSSELL e ROUSSEL, 2007).

O aumento da concentração da ureia pode ser devido ao alto catabolismo proteico em casos de inanição, febre, aumento na ingestão proteica (STÄMPFLI e OLIVER-ESPINOSA, 2015) e maior taxa de degradação de proteína no rúmen. A azotemia, que consiste no aumento da concentração sérica de compostos nitrogenados, ureia e creatinina, pode ter origem pré-renal, pela menor perfusão, causada por desidratação e hipovolemia; renal, por falha renal aguda ou crônica e pós-renal, por obstruções do trato urinário (RUSSELL e ROUSSEL, 2007).

O balanço energético pode ser avaliado através da mensuração da concentração sérica de BHB e glicose (BERTONI e TREVISI, 2013; GONZÁLEZ et al., 2014), sendo o equilíbrio do balanço energético uma condição nutricional extremamente importante para saúde, produção e reprodução da vaca. A concentração de corpos cetônicos é um parâmetro muito útil na avaliação do estado energético e, dentre eles, a mensuração da concentração de BHB é a mais comumente utilizada (VAN SAUN, 2006), ocorrendo aumento da concentração sanguínea em consequência do balanço energético negativo, ou seja, pelo déficit energético (BOUDA et al., 2000).

A glicemia é resultado do equilíbrio entre a quantidade ingerida e a regulação hormonal pela insulina, glucagon, glucocorticóides, catecolaminas e hormônio do crescimento, além das vias bioquímicas, de quebra e síntese de glicose (STÄMPFLI e OLIVER-ESPINOSA, 2015). A glicose é extremamente importante, sendo o principal combustível para oxidação respiratória celular, essencial para o metabolismo de diversos tecidos, e falhas na homeostase podem alterar sua concentração sanguínea, que diminui no balanço energético negativo e na cetose (GONZALEZ e SCHEFFER, 2002). Todavia, a glicemia não é tão bom indicador do balanço energético quanto a concentração do BHB (BOUDA et al., 2000).

Podem ser mensuradas as concentrações sanguíneas de minerais, que exercem diversas funções no organismo, como composição estrutural dos tecidos, participa da função neuromuscular, função enzimática e metabolismo energético (GONZÁLEZ, 2000; GONZÁLEZ et al., 2014). A mensuração das concentrações de cálcio, fósforo e magnésio é extremamente útil. Sendo que, concentrações sanguíneas destes minerais abaixo do valor fisiológico podem tornar a vaca incapaz de se manter em estação, levando ao decúbito. Além disso, a diminuição das concentrações séricas desses minerais também reduz o consumo alimentar, a motilidade do trato gastrointestinal, a produtividade e aumenta a susceptibilidade a outras doenças (GOFF, 2004).

As alterações nas concentrações de cálcio, fósforo e magnésio são correlacionadas, uma vez que os mesmos mecanismos homeostáticos regulam as concentrações destes minerais. Todos fazem parte da composição óssea (RUSSELL e ROUSSEL, 2007) e a manutenção dos níveis sanguíneos depende do consumo na dieta e, para cálcio e fósforo, da reabsorção óssea (GOFF, 2006a), dependente do paratormônio. A alcalose metabólica e a hipomagnesemia reduzem a ação do paratormônio (GOFF, 2015a), portanto, o magnésio é essencial na manutenção da calcemia. A redução na concentração sérica de magnésio pode indicar falha no consumo e/ou dieta (BOUDA et al., 2000).

## REFERÊNCIAS

- ACKERMANN, M. R. Inflamação e cicatrização. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY J. F. (2. Ed.) **Bases da patologia em veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 89-146.
- ADKINS, P. R. F.; MIDDLETON, J. R. Methods for diagnosing mastitis. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 34, n. 3, p. 479-491, 2018.
- ALLISON, R. W. Laboratory Evaluation of Plasma and Serum Proteins. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012a. p. 460-475.
- ALLISON, R. W. Laboratory Evaluation of the Liver. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012b. p. 401-424.
- ALVARENGA, E. A.; MOREIRA, G. H. F. A.; FACURY FILHO, E. J.; LEME, F. O. P.; COELHO, S. G.; MOLINA, L. R.; LIMA, J. A. M.; CARVALHO, A. U. Avaliação do perfil metabólico de vacas da raça Holandesa durante o período de transição. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 3, p. 281-290, 2015.
- ANDERSSON, L. Concentrations of blood and milk ketone bodies, blood isopropanol and plasma glucose in dairy cows in relation to the degree of hyperketonaemia and clinical signs. **Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A**, v. 31, n. 1-10, p. 683-693, 1984.
- ANDERSSON, L. Subclinical ketosis in dairy cows. **Veterinary clinics of north america: Food animal practice**, v. 4, n. 2, p. 233-251, 1988.
- BAIN, P. J. Liver. In: LATIMER, K. S. (5. Ed.) **Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. Chichester: John Wiley & Sons, 2011. p. 211-230.
- BAIRD, G. D. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 1, p. 1-10, 1982.
- BAIRD, G. D.; HIBBITT, K. G.; HUNTER, G. D.; LUND, P.; STUBBS, M.; KREBS, H. A. Biochemical aspects of bovine ketosis. **Biochemical Journal**, v. 107, n. 5, p. 683-689, 1968.
- BAUMAN, D. E. Regulation of nutrient partitioning during lactation: homeostasis and homeorhesis revisited. In: CRONJÉ, P. B. (1. Ed.) **Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction**. Wallingford: CAB International, 2000. p. 311-328.
- BAUMAN, D. E.; CURRIE, W. B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal of dairy science**, v. 63, n. 9, p. 1514-1529, 1980.
- BAUMANN, H.; GAULDIE, J. The acute phase response. **Immunology today**, v. 15, n. 2, p. 74-80, 1994.

BEAGLEY, J. C.; WHITMAN, K. J.; BAPTISTE, K. E.; SCHERZER, J. Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 24, n. 2, p. 261-268, 2010.

BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of animal science**, v. 73, n. 9, p. 2804-2819, 1995.

BELL, A. W.; BAUMAN, D. E. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. **Journal of mammary gland biology and neoplasia**, v. 2, n. 3, p. 265-278, 1997.

BERGMAN, E. N. Hyperketonemia-ketogenesis and ketone body metabolism. **Journal of dairy science**, v. 54, n. 6, p. 936-948, 1971.

BERTICS, S. J.; GRUMMER, R. R.; CADORNIGA-VALINO, C.; STODDARD, E. E. Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. **Journal of dairy science**, v. 75, n. 7, p. 1914-1922, 1992.

BERTONI, G.; TREVISI, E. Diet-health relationship in the transition period: consequences on energy balance and efficiency. In: 59th Annual Meeting EAAP, Vilnius. **Book of Abstracts of the 59th Annual Meeting of the European Association for Animal Production**, Vilnius. 2008. 9 p.

BERTONI, G.; TREVISI, E. Use of the liver activity index and other metabolic variables in the assessment of metabolic health in dairy herds. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 413-431, 2013.

BERTONI, G.; TREVISI, E.; HAN, X.; BIONAZ, M. Effects of Inflammatory Conditions on Liver Activity in Puerperium Period and Consequences for Performance in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, n.9, p. 3300-3310, 2008.

BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L.; LIBRANDI, F.; FERRARI, A.; BERTONI, G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 4, p. 1740-1750, 2007.

BOUDA, J.; OCHOA, L. N.; QUIROZ-ROCHA, G. F. Interpretação dos Perfis de Laboratório em Bovinos. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BORGES, J. B.; CECIM, M. (1. Ed.) **Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos**. Porto Alegre: Biblioteca Setorial da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS, 2000. p. 19-22.

BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. **The veterinary journal**, v. 164, n. 2, p. 116-128, 2002.

BRUSS, M. L. Lipids and Ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (6. Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Elsevier, 2008. p. 81-115.

BURTON, J. L.; MADSEN, S. A.; CHANG, L.; WEBER, P. S. D.; BUCKHAM, K. R.; VAN DORP, R.; HICKEY, M.; EARLEY, B. Gene expression signatures in neutrophils exposed to glucocorticoids: A new paradigm to help explain "neutrophil dysfunction" in parturient dairy cows. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 105, n. 3-4, p. 197-219, 2005.



BURVENICH, C.; VAN MERRIS, V.; MEHRZAD, J.; DIEZ-FRAILE, A.; DUCHATEAU, L. Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. **Veterinary research**, v. 34, n. 5, p. 521-564, 2003.

CHAGAS, L. M.; LUCY, M. C.; BACK, P. J.; BLACHE, D.; LEE, J. M.; GORE, P. J. S.; SHEAHAN, A. J.; ROCHE, J. R. Insulin resistance in divergent strains of Holstein-Friesian dairy cows offered fresh pasture and increasing amounts of concentrate in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 1, p. 216-222, 2009.

CHAPINAL, N.; CARSON, M.; DUFFIELD, T. F.; CAPEL, M.; GODDEN, S.; OVERTON, M.; SANTOS, J. E. P.; LEBLANC, S. J. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 10, p. 4897-4903, 2011.

CHAPINAL, N.; LEBLANC, S. J.; CARSON, M.; LESLIE, K. E.; GODDEN, S.; CAPEL, M.; SANTOS, J. E. P.; OVERTON, M. W.; DUFFIELD, T. F. Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease, milk production, and early lactation reproductive performance. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 10, p. 5676-5682, 2012.

CUIYU, Z.; CHANG, Z.; JIANG, Z.; CHENG, X.; YOU, Z. H. The relationship between insulin resistance and type II ketosis in dairy cows. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. 1, 2019.

DAVIDSON, A. P.; STABENFELDT, G. H. Gestação e Parto. In: KLEIN, B. G. (5. Ed.) **Cunningham tratado de Fisiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p. 431-438.

DAVIES, C. J.; HILL, J. R.; EDWARDS, J. L.; SCHRICK, F. N.; FISHER, P. J.; ELDRIDGE, J. A.; SCHLAFFER, D. H. Major histocompatibility antigen expression on the bovine placenta: its relationship to abnormal pregnancies and retained placenta. **Animal reproduction science**, v. 82, p. 267-280, 2004.

DE KOSTER, J. D.; OPSOMER, G. Insulin resistance in dairy cows. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 299-322, 2013.

DEGARIS, P. J.; LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 58-69, 2008.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier?. **Journal of dairy science**, v. 82, n. 11, p. 2259-2273, 1999.

DUCUSIN, R. J. T.; UZUKA, Y.; SATOH, E.; OTANI, M.; NISHIMURA, M.; TANABE, S.; SARASHINA, T. Effects of extracellular Ca<sup>2+</sup> on phagocytosis and intracellular Ca<sup>2+</sup> concentrations in polymorphonuclear leukocytes of postpartum dairy cows. **Research in veterinary science**, v. 75, n. 1, p. 27-32, 2003.

DUFFIELD, T. F.; LISSEMORE, K. D.; MCBRIDE, B. W.; LESLIE, K. E. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 2, p. 571-580, 2009.

ECKERSALL, D. Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (6. Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Elsevier, 2008. p. 117-155.

EDDY, R. G. Major Metabolic Disorders. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. (2. Ed.) **Bovine Medicine, Diseases and Husbandry of Cattle**. Iowa: Blackwell Publishing, 2004. p. 781-803.

EDMONDSON, P.W.; BRAMLEY, A. J. Mastitis. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. (2. Ed.) **Bovine Medicine, Diseases and Husbandry of Cattle**. Iowa: Blackwell Publishing, 2004. p. 326-336.

EVANS, E. W. Proteins, Lipids, and Carbohydrates. In: LATIMER, K. S. (5. Ed.) **Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. Chichester: John Wiley & Sons, 2011. p. 173-210.

FLEMING, S. A. Ketosis of Ruminants (Acetonemia). In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 1252-1258.

FORBES, J. M. Voluntary food intake and reproduction. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 46, n. 2, p. 193-201, 1987.

FOSTER, R. A. Sistema Reprodutor da Fêmea e Glândula Mamária. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY J. F. (2. Ed.) **Bases da patologia em veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 1088-1129.

GALVÃO, K. N. Association between immune function and development of uterine disease in dairy cows. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 318-322, 2018.

GALVÃO, K. N. Risk Factors for Uterine Disease in Dairy Cows. **University of Florida - IFAS Extension**, v. 2012, n. 5, 2012. Disponível em: <<https://edis.ifas.ufl.edu/vm183>>. Acesso em: 12 fevereiro 2021.

GALVÃO, K. N.; RISCO, C.; SANTOS, J. E. P. Identifying and treating uterine disease in dairy cows. **University of Florida - IFAS Extension**, v. 2011, n. 4, 2011. Disponível em: <<https://edis.ifas.ufl.edu/vm179>>. Acesso em: 12 fevereiro 2021.

GARNSWORTHY, P. C.; TOPPS, J. H. The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. **Animal Science**, v. 35, n. 1, p. 113-119, 1982.

GIULIODORI, M. J.; MAGNASCO, R. P.; BECU-VILLALOBOS, D.; LACAU-MENGIDO, I. M.; RISCO, C. A.; DE LA SOTA, R. L. Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 6, p. 3621-3631, 2013.

GOFF, J. P. Calcium, Magnesium, and Phosphorus. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015a. p.1258 -1269.

GOFF, J. P. Disorders of Carbohydrate and Fat Metabolism. In: REECE, W. O.; ERICKSON, H. H.; GOFF, J. P.; UEMURA, E. E. (13. Ed.) **Dukes' physiology of domestic animals**. Ithaca: John Wiley & Sons, 2015b. p. 541-550.

GOFF, J. P. Macromineral disorders of the transition cow. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 471-494, 2004.

GOFF, J. P. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. **Animal feed science and technology**, v. 126, n. 3-4, p. 237-257, 2006a.

GOFF, J. P. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 4, p. 1292-1301, 2006b.

GOFF, J. P. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, n. 2, p. 319-337, 2000.

GOFF, J. P. Ruminant Digestive Physiology and Intestinal Microbiology. In: REECE, W. O.; ERICKSON, H. H.; GOFF, J. P.; UEMURA, E. E. (13. Ed.) **Dukes' physiology of domestic animals**. Ithaca: John Wiley & Sons, 2015c. p. 522-53.

GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The veterinary journal**, v. 176, n. 1, p. 50-57, 2008.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 7, p. 1260-1268, 1997.

GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A.; HORST, R. L. Enzymes and factors and action in normal controlling vitamin D metabolism and milk fever cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 12, p. 4022-4032, 1991.

GONZÁLEZ, F. H. D. Indicadores sangüíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J.; PATIÑO, H. O.; RIBEIRO, L. A. (1. Ed.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Biblioteca Setorial da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS, 2000. p. 31-52.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CORRÊA, M. N.; SILVA, S. C. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. 2. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2014. 344 p.

GONZALEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. L. F. S. Perfil sangüíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: ORTOLANI, E. L.; GONZÁLEZ, F. H. D.; BARROS, L.; CAMPOS, R. (1. Ed.) **Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina) - Anais do curso realizado no 29º Congresso Nacional de Medicina Veterinária**, Porto Alegre: Biblioteca Setorial da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS, 2002. p. 5-17.

GRECO, D. S.; STABENFELDT, G. H. Glândulas endócrinas e suas funções. In: KLEIN, B. G. (5. Ed.) **Cunningham tratado de Fisiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p. 374-407.

GROSS, J.; VAN DORLAND, H. A.; BRUCKMAIER, R. M.; SCHWARZ, F. J. Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactational and deliberately induced negative energy balance with subsequent realimentation. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 4, p. 1820-1830, 2011.

GRUMMER, R. R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 76, n. 12, p. 3882-3896, 1993.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of animal science**, v. 73, n. 9, p. 2820-2833, 1995.

- GRUMMER, R. R.; BERTICS, S.; LACOUNT, D. W.; SNOW, J. A.; DENTINE, M. R.; STAUFFACHER, R. H. Estrogen induction of fatty liver in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 73, n. 6, p. 1537-1543, 1990.
- GRUMMER, R. R.; MASHEK, D. G.; HAYIRLI, A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 447-470, 2004.
- GUNNINK, J. W. Pre-partum leucocytic activity and retained placenta. **Veterinary Quarterly**, v. 6, n. 2, p. 52-54, 1984a.
- GUNNINK, J. W. Retained placenta and leucocytic activity. **Veterinary Quarterly**, v. 6, n. 2, p. 49-51, 1984b.
- HAMMON, D. S.; EVJEN, I. M.; DHIMAN, T. R.; GOFF, J. P.; WALTERS, J. L. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 113, n. 1-2, p. 21-29, 2006.
- HAYIRLI, A. The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. **Veterinary research communications**, v. 30, n. 7, p. 749-774, 2006.
- HAYIRLI, A.; GRUMMER, R. R.; NORDHEIM, E. V.; CRUMP, P. M. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 12, p. 3430-3443, 2002.
- HEINRICH, P. C.; CASTELL, J. V.; ANDUS, T. Interleukin-6 and the acute phase response. **Biochemical journal**, v. 265, n. 3, p. 621-636, 1990.
- HERDT, T. H. Fuel homeostasis in the ruminant. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 4, n. 2, p. 213-231, 1988.
- HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, n. 2, p. 215-230, 2000.
- HERDT, T. H.; SAYEGH, A. I. Digestão: O Processo Fermentativo. IN: KLEIN, B. G. (5. Ed.) **Cunningham tratado de Fisiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014a. p. 320-341.
- HERDT, T. H.; SAYEGH, A. I. Utilização de Nutrientes após a Absorção. IN: KLEIN, B. G. (5. Ed.) **Cunningham tratado de Fisiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014b. p. 342-358.
- HILLMAN, R.; GILBERT, R. O. Reproductive Diseases In: PEEK, S. F.; DIVERS, T. J. (2. Ed.) **Rebhun's Diseases of Dairy Cattle**. St. Louis: Elsevier Inc., 2008. p. 395-446.
- HOFFMANN, W. E.; SOLTER, P. F. Diagnostic Enzymology of Domestic Animals. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (6. Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Elsevier, 2008. p. 351-378.
- HOLTENIUS, P.; HOLTENIUS, K. New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: a review. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 43, n. 1-10, p. 579-587, 1996.

HOSSEIN-ZADEH, N. G.; ARDALAN, M. Cow-specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. **Veterinary research communications**, v. 35, n. 6, p. 345-354, 2011.

HUZZEY, J. M.; VEIRA, D. M.; WEARY, D. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 7, p. 3220-3233, 2007.

INGVARTSEN, K. L. Feeding-and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. **Animal feed science and technology**, v. 126, n. 3-4, p. 175-213, 2006.

INGVARTSEN, K. L.; ANDERSEN, J. B. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. **Journal of dairy science**, v. 83, n. 7, p. 1573-1597, 2000.

INGVARTSEN, K. L.; MOYES, K. M. Factors contributing to immunosuppression in the dairy cow during the periparturient period. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v. 63, s. 1, p. 15-24, 2015.

JONES, M. L.; ALLISON, R. W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 377-402, 2007.

KAHN, C. R. Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: a necessary distinction. **Metabolism**, v. 27, n. 12, p. 1893-1902, 1978.

KAYANO, M.; KIDA, K. Identifying alterations in metabolic profiles of dairy cows over the past two decades in Japan using principal component analysis. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 12, p. 8764-8774, 2015.

KELTON, D. F.; LISSEMORE, K. D.; MARTIN, R. E. Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 81, n. 9, p. 2502-2509, 1998.

KESSLER, E. C.; GROSS, J. J.; BRUCKMAIER, R. M.; ALBRECHT, C. Cholesterol metabolism, transport, and hepatic regulation in dairy cows during transition and early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 9, p. 5481-5490, 2014.

KIMURA, K.; GOFF, J. P.; KEHRLI, M. E.; REINHARDT, T. A. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 3, p. 544-550, 2002.

KIMURA, K.; GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A.; SATO, S.; TYLER, H. D. Association between retained placenta and impaired neutrophil function in dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 44, n. 1, p. 1-1, 2003.

KIMURA, K.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J. P. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 7, p. 2588-2595, 2006.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos Ruminantes**. 3.ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2011. 216 p.

LAVEN, R. A.; PETERS, A. R. Bovine retained placenta: aetiology, pathogenesis and economic loss. **Veterinary Record**, v. 139, n. 19, p. 465-471, 1996.

LEBLANC, S. J. Interactions of metabolism, inflammation, and reproductive tract health in the postpartum period in dairy cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p. 18-30, 2012.

LEBLANC, S. J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 102-114, 2008.

LEBLANC, S. J. Review: relationships between metabolism and neutrophil function in dairy cows in the peripartum period. **Animal**, v. 14, s. 1, p. 44-54, 2020.

LEBLANC, S. J.; LISSEMORE, K. D.; KELTON, D. F.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 4, p. 1267-1279, 2006.

LEBLANC, S. Monitoring Metabolic Health of Dairy Cattle in the Transition Period. **Journal of Reproduction and Development**. v. 56, p. 29-35, 2010.

MAHNANI, A.; SADEGHI-SEFIDMAZGI, A.; CABRERA, V. E. Consequences and economics of metritis in Iranian Holstein dairy farms. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 9, p. 6048-6057, 2015.

MARTINEZ, N.; RISCO, C. A.; LIMA, F. S.; BISINOTTO, R. S.; GRECO, L. F.; RIBEIRO, E. S.; MAUNSELL, F.; GALVÃO, K.; SANTOS, J. E. P. Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 12, p. 7158-7172, 2012.

MARTINEZ, N.; SINEDINO, L. D. P.; BISINOTTO, R. S.; RIBEIRO, E. S.; GOMES, G. C.; LIMA, F. S.; GRECO, L. F.; RISCO, C. A.; GALVÃO, K. N.; TAYLOR-RODRIGUEZ, D.; DRIVER, J. P.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 2, p. 874-887, 2014.

MARTÍN-TERESO, J.; MARTENS, H. Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease). **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 643-670, 2014.

MAURYA, S. K.; SINGH, O. P. Blood Biochemical Profile and Nutritional Status of Dairy Cows under Field Conditions. **Journal of Animal Research**, v. 6, n. 1, p. 167, 2016.

MCART, J. A. A.; NYDAM, D. V.; OSPINA, P. A.; OETZEL, G. R. A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 12, p. 6011-6020, 2011.

MCDUGALL, S.; ARTHUR, D. G.; BRYAN, M. A.; VERMUN, J. J.; WEIR, A. M. Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics. **New Zealand veterinary journal**, v. 55, n. 4, p. 161-170, 2007.

MELENDEZ, P.; DONOVAN, G. A.; RISCO, C. A.; GOFF, J. P. Plasma mineral and energy metabolite concentrations in dairy cows fed an anionic prepartum diet that did or did not have retained fetal membranes after parturition. **American journal of veterinary research**, v. 65, n. 8, p. 1071-1076, 2004.

MORETTI, P.; PROBO, M.; CANTONI, A.; PALTRINIERI, S.; GIORDANO, A. Fluctuation of neutrophil counts around parturition in Holstein dairy cows with and without retained placenta. **Research in veterinary science**, v. 107, p. 207-212, 2016.

MULLIGAN, F. J.; DOHERTY, M. L. Production diseases of the transition cow. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 3-9, 2008.

MULLIGAN, F.; O'GRADY, L.; RICE, D.; DOHERTY, M. Production diseases of the transition cow: Milk fever and subclinical hypocalcaemia. **Irish Veterinary Journal**, v. 59, n. 12, p. 697, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. Ed. Washington: National Academies Press, 2001.

NEVES, R. C.; LENO, B. M.; BACH, K. D.; MCART, J. A. A. Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with disease and milk production. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 10, p. 9321-9331, 2018.

OETZEL, G. R. Herd-level ketosis—diagnosis and risk factors. In: Preconference seminar 7C Dairy Herd Problem Investigation Strategies: Transition Cow Troubleshooting. **Proceedings of the 40th Annual Conference American Association of Bovine Practitioners**, Vancouver. 2007. p. 67-91.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 651-674, 2004.

OLIVEIRA, R. S. B. R.; MOURA, A. R. F.; PÁDUA, M. F. S.; BARBON, I. M.; SILVA, M. E. M.; SANTOS, R. M.; MUNDIM, A. V.; SAUT, J. P. E. Perfil metabólico de vacas mestiças leiteiras com baixo escore de condição corporal no periparto. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 362-368, 2014.

OSPINA, P. A.; NYDAM, D. V.; STOKOL, T.; OVERTON, T. R. Evaluation of nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 2, p. 546-554, 2010.

OVERTON, M.; FETROW, J. Economics of postpartum uterine health. Dairy Cattle Reproduction Council Convention, 2008, Omaha. **Proceedings Dairy Cattle Reproduction Council**, p. 39-44, 2008.

PEEK, S. F.; DIVERS, T. J. Metabolic Diseases. In: PEEK, S. F.; DIVERS, T. J. (2. Ed.) **Rebhun's Diseases of Dairy Cattle**. St. Louis: Elsevier Inc., 2008. p. 590-603.

PÉREZ-BÁEZ, J.; RISCO, C. A.; CHEBEL, R. C.; GOMES, G. C.; GRECO, L. F.; TAO, S.; THOMPSON, I. M.; AMARAL, B. C.; ZENOBI, M. G.; MARTINEZ, N.; STAPLES, C. R.; DAHL, G. E.; HERNÁNDEZ, J. A.; SANTOS, J. E. P.; GALVÃO, K.

N. Association of dry matter intake and energy balance prepartum and postpartum with health disorders postpartum: Part I. Calving disorders and metritis. **Journal of dairy science**, v. 102, n. 10, p. 9138-9150, 2019.

PETERSEN, H.; NIELSEN, J.; HEEGAARD, P. M. H. **Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry**. Veterinary Research, BioMed Central, v. 35, n. 2, p.163-187, 2004.

PIRES, J. A. A.; SOUZA, A. H.; GRUMMER, R. R. Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 6, p. 2735-2744, 2007.

PUTMAN, A. K.; BROWN, J. L.; GANDY, J. C.; WISNIESKI, L.; SORDILLO, L. M. Changes in biomarkers of nutrient metabolism, inflammation, and oxidative stress in dairy cows during the transition into the early dry period. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 10, p. 9350-9359, 2018.

PYÖRÄLÄ, S. Mastitis in Post-Partum Dairy Cows. **Reproduction in domestic animals**, v. 43, p. 252-259, 2008.

QU, Y.; FADDEN, A. N.; TRABER, M. G.; BOBE, G. Potential risk indicators of retained placenta and other diseases in multiparous cows. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 7, p. 4151-4165, 2014.

RADIN, M. J. Laboratory Evaluation of Lipids. In: THRALL, A.M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012. p. 480-496.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RECZYŃSKA, D.; ZALEWSKA, M.; CZOPOWICZ, M.; KABA, J.; ZWIERZCHOWSKI, L.; BAGNICKA, E. Acute phase protein levels as an auxiliary tool in diagnosing viral diseases in ruminants—a review. **Viruses**, v. 10, n. 9, p. 502, 2018.

REINHARDT, T. A.; LIPPOLIS, J. D.; MCCLUSKEY, B. J.; GOFF, J. P.; HORST, R. L. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The Veterinary Journal**, v. 188, n. 1, p. 122-124, 2011.

RIEKERINK, R. G. M.; BARKEMA, H. W.; KELTON, D. F.; SCHOLL, D. T. Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. **Journal of dairy science**, v. 91, n. 4, p. 1366-1377, 2008.

ROLAND, L.; DRILLICH, M.; IWERSEN, M. Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 26, n. 5, p. 592-598, 2014.

RUEGG, P. L.; ERSKINE, R. J.; MORIN, D. E. Mammary Gland Health. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 1015-1043.



RUSSELL, K. E.; ROUSSEL, A. J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 403-426, 2007.

SALAZAR, L. F. L.; MARCONDES, M. I.; ROTTA, P. P. Manejo Nutricional no período de transição da vaca leiteira. ROTTA, P. P.; MARCONDES, M. I.; PEREIRA, B. M. **Nutrição e Manejo de Vacas Leiteiras**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2019. p. 62-127.

SHARKEY, L. C.; OVERMANN, J. A. Alterations in the Erythron. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 376-380.

SHELDON, I. M.; BARRETT, D. C.; BOYD, H. The Postpartum Period. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. (2. Ed.) **Bovine Medicine, Diseases and Husbandry of Cattle**. Iowa: Blackwell Publishing, 2004. p. 508-529.

SHELDON, I. M.; DOBSON, H. Postpartum uterine health in cattle. **Animal reproduction science**, v. 82, p. 295-306, 2004.

SHELDON, I. M.; LEWIS, G. S.; LEBLANC, S.; GILBERT, R. O. Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v. 65, n. 8, p. 1516-1530, 2006.

SHELDON, I. M.; WILLIAMS, E. J.; MILLER, A. N. A.; NASH, D. M.; HERATH, S. Uterine diseases in cattle after parturition. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 115-121, 2008.

SORDILLO, L. M. Mammary Gland Immunobiology and Resistance to Mastitis. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 34, n. 3, p. 507-523, 2018.

SORDILLO, L. M.; RAPHAEL, W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 267-278, 2013.

STÄMPFLI, H.; OLIVER-ESPINOSA, O. Clinical Chemistry Tests. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 350-373.

STEENEVELD, W.; HOGEVEEN, H.; BARKEMA, H. W.; VAN DEN BROEK, J.; HUIRNE, R. B. M. The influence of cow factors on the incidence of clinical mastitis in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 91, n. 4, p. 1391-1402, 2008.

SVENSSON, C.; NYMAN, A.K.; WALLER, P. K.; EMANUELSON, U. Effects of housing, management, and health of dairy heifers on first-lactation udder health in southwest Sweden. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 6, p. 1990-1999, 2006.

TARTTELIN, M. F.; GORSKI, R. A. The effects of ovarian steroids on food and water intake and body weight in the female rat. **European Journal of Endocrinology**, v. 72, n. 3, p. 551-568, 1973.

TORNQUIST, S. J.; RIGAS, J. Interpretation of Ruminant Leukocyte Responses. In: WEISS, D.; WARDROP, K. J. (6. Ed.) **Schalm's Veterinary Hematology**. Ames: Willey-Blackwell, 2010. p. 307-313.

VAN DEN TOP, A. M.; WENSING, T.; GEELEN, M. J. H.; WENTINK, G. H.; VAN'T KLOOSTER, A. T.; BEVNEN, A. C. Time trends of plasma lipids and enzymes synthesizing hepatic triacylglycerol during postpartum development of fatty liver in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 78, n. 10, p. 2208-2220, 1995.

VAN SAUN, R. J. Metabolic profiles for evaluation of the transition period. In: American Association of Bovine Practitioners Proceedings of the Annual Conference. **Proceedings of AABP**, v. 39, 2006. p. 130-138.

VANHOLDER, T.; PAPEN, J.; BEMERS, R.; VERTENTEN, G.; BERGE, A. C. B. Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 2, p. 880-888, 2015.

VENJAKOB, P. L.; BORCHARDT, S.; HEUWIESER, W. Hypocalcemia—Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 11, p. 9258-9266, 2017.

VAZQUEZ-AÑON, M.; BERTICS, S.; LUCK, M.; GRUMMER, R. R.; PINHEIRO, J. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 77, n. 6, p. 1521-1528, 1994.

WANKHADE, P. R.; MANIMARAN, A.; KUMARESAN, A.; JEYAKUMAR, S.; RAMESHA, K.P.; SEJIAN, V.; RAJENDRAN, D.; VARGHESE, M.R. **Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review**. Veterinary World, v.10, n.11, p. 1367-1377, 2017.

WEISER, G. Introduction to Leukocytes and the Leukogram. In: THRALL, A.M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012a. p. 118-122.

WEISER, G. Laboratory Technology for Veterinary Medicine. In: THRALL, A.M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012b. p. 3-33.

WHITE, H. M. The role of TCA cycle anaplerosis in ketosis and fatty liver in periparturient dairy cows. **Animals**, v. 5, n. 3, p. 793-802, 2015.

WU, J.; LIU, J.; WANG, D. Effects of body condition on the insulin resistance, lipid metabolism and oxidative stress of lactating dairy cows. **Lipids in health and disease**, v. 19, p. 1-7, 2020.

#### **4 CAPÍTULO 1 – HIPOCALCEMIA CLÍNICA DE OCORRÊNCIA NATURAL EM VACAS LEITEIRAS: ASPECTOS CLÍNICOS, DOENÇAS ASSOCIADAS E ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS**

##### **RESUMO**

O uso de exames sanguíneos traz importantes informações para compreensão e monitoramento das doenças no período de transição. O objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações encontradas em parâmetros sanguíneos de vacas com hipocalcemia de ocorrência natural, associando com características clínicas e doenças concomitantes. A hipocalcemia foi confirmada em 15 vacas leiteiras com concentração de cálcio sérico total diminuído ( $<8\text{mg/dL}$ ), pela resposta positiva ao tratamento, e pela apresentação de decúbito esternal ( $n=7$ ) ou lateral ( $n=8$ ). Foi avaliada a presença de doenças concomitantes como retenção de placenta, mastite e cetose, entre outras, e vacas que não apresentaram nenhuma doença foram consideradas sadias, pertencendo ao grupo controle ( $n=20$ ). O sangue foi coletado no primeiro mês pós-parto, para mensuração das concentrações sanguíneas de glicose, beta-hidroxibutirato, cálcio total, fósforo, magnésio, colesterol, triglicerídeos, ureia, creatinina, proteínas totais, albumina, globulinas, fibrinogênio, e para determinação das atividades séricas da AST, FA, GGT, CK, além de realização do hemograma. As amostras foram analisadas no Laboratório Clínico Veterinário-UFPR Setor Palotina. Variáveis como número de dias após o parto, número de partos, raça e escore de condição corporal (1-5) também foram avaliadas. O grupo de vacas com hipocalcemia e o grupo controle foram comparados através de Teste t não pareado e teste de Mann Whitney ( $p<0,05$ ). As vacas com hipocalcemia tiveram seus resultados comparados a intervalos de referência. Também foram avaliadas as correlações entre as variáveis, através do coeficiente de Pearson e correlação de Spearman ( $p<0,05$ ). Nas vacas avaliadas, a hipocalcemia clínica ocorreu em até um dia após o parto, afetou vacas a partir da terceira lactação e as vacas da raça Jersey e seus cruzamentos apresentaram correlação com menores concentrações de cálcio e fósforo séricos. As principais alterações sanguíneas das vacas com hipocalcemia foram a redução das concentrações séricas de cálcio, fósforo e colesterol, a presença de indicadores de desidratação como policitemia, hiperproteinemia, hiperalbuminemia e azotemia. Além disso, a hiperglicemia e a leucocitose por neutrofilia foram alterações comuns, e podem ser consequência do aumento do cortisol. O aumento de CK indicou lesão muscular, alteração comum devido ao decúbito. A hipocalcemia clínica foi associada a outras doenças, como mastite (47%), retenção de placenta (20%) e cetose tipo 2 (13%). Duas vacas tiveram cetose tipo 2 associada, apresentando alterações metabólicas, como hiperacetonemia, hiperglicemia e hipertrigliceridemia, e alterações sugestivas de quadro inflamatório, como hiperfibrinogenemia, o que pode ter acontecido pela interação do alto ECC, ligado à maior resistência à insulina e a inflamação. Diante disso, a hipocalcemia apresentou alterações hematológicas que indicam principalmente a desidratação, a presença de lesão muscular, a redução das concentrações séricas de fósforo e aumento das de glicose e, foi associada a doenças como mastite, retenção de placenta e cetose tipo 2.

Palavras chave: Febre do Leite; Decúbito; Cetose tipo 2; Cálcio; Hipofosfatemia.

## **SPONTANEOUS CLINICAL HYPOCALCEMIA IN DAIRY COWS: CLINICAL ASPECTS, ASSOCIATED DISEASES AND HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHANGES**

### **ABSTRACT**

The use of blood tests brings important information for understanding and monitoring diseases in the transition period. The aim of this work was to evaluate alterations found in blood parameters of cows with naturally occurring hypocalcemia, associating them with clinical characteristics and concomitant diseases. Hypocalcemia was confirmed in 15 dairy cows with a decrease of total serum calcium concentration ( $<8\text{mg/dL}$ ), due to the positive response to treatment and by the presence of sternal ( $n=7$ ) or lateral ( $n=8$ ) decubitus. The presence of concomitant diseases such as retained placenta, mastitis and ketosis, among others was evaluated, and cows that did not present any disease were considered healthy, belonging to the control group ( $n=20$ ). Blood was collected in the first postpartum month to measure blood concentrations of glucose, beta-hydroxybutyrate, total calcium, phosphorus, magnesium, cholesterol, triglycerides, urea, creatinine, total proteins, albumin, globulins, fibrinogen, and for determination of the serum activities of AST, FA, GGT, CK, and to perform the blood count. The samples were analyzed at the Veterinary Clinical Laboratory - UFPR Setor Palotina. Variables such as number of days postpartum, number of deliveries, breed and body condition score (1-5) were also assessed. The group of cows with hypocalcemia and the control group were compared using the unpaired T-test and the Mann Whitney test ( $p<0.05$ ). The hypocalcemic cows had their results compared to reference intervals. Correlations between variables were also assessed using Pearson's coefficient and Spearman's correlation ( $p<0.05$ ). In the evaluated cows, clinical hypocalcemia occurred within one day after calving, affected cows from the third lactation and Jersey cows and their crossbreeds correlated with lower serum calcium and phosphorus concentrations. The main blood changes in cows with hypocalcemia was the reduction in serum concentrations of calcium, phosphorus and cholesterol, the presence of dehydration indicators such as polycythemia, hyperproteinemia, hyperalbuminemia and azotemia. In addition, hyperglycemia and leukocytosis due to neutrophilia were common changes, and may be a consequence of cortisol increase. The increase in CK indicated muscle damage, a common change due to decubitus. Clinical hypocalcemia has been associated with other diseases, such as mastitis (47%), retained placenta (20%) and ketosis type 2 (13%). Two cows had associated ketosis type 2, presenting metabolic alterations, such as hyperacetonemia, hyperglycemia and hypertriglyceridemia, and alterations suggestive of an inflammatory condition, such as hyperfibrinogenemia, which may be due to the interaction of high ECC, greater insulin resistance and inflammation. Therefore, hypocalcemia showed hematological changes that mainly indicate dehydration, the presence of muscle damage, a reduction in serum phosphorus concentrations and increase in glucose levels, and was associated with diseases such as mastitis, retained placenta and ketosis type 2.

Key words: Milk Fever; Decubitus; Type 2 ketosis; Calcium; Hypophosphatemia.

## 4.1 INTRODUÇÃO

A transição do estado não lactante para lactante proporciona um desafio na homeostase do cálcio, pois há grande aumento na demanda de cálcio após o parto e possíveis falhas na adaptação a esta demanda levam a hipocalcemia grave (GOFF, 2008). Este aumento das necessidades de cálcio se deve principalmente à formação do esqueleto fetal, produção de colostro e de leite (PEEK e DIVERS, 2008).

O cálcio é necessário para a função nervosa e muscular e, assim, a hipocalcemia pode levar à perda da capacidade da vaca de levantar-se e manter-se em estação, manifestação clínica importante da hipocalcemia clínica. Além disso, a redução do cálcio sanguíneo pode reduzir o consumo de matéria seca, a motilidade gastrointestinal, a produtividade e aumentar o risco de outras doenças (GOFF, 2008).

A hipocalcemia é classificada em três estágios, conforme as manifestações clínicas apresentadas. No primeiro estágio a vaca mantém-se em estação, mas pode apresentar ataxia, tremores e excitação. O segundo estágio é caracterizado pelo decúbito esternal, havendo também estase gastrointestinal. No terceiro estágio o animal encontra-se em decúbito lateral, próximo ao estado de colapso vascular, com taquicardia intensa e bulhas cardíacas pouco audíveis, ou seja hipofonese (RADOSTITIS et al., 2002; GONZÁLEZ et al., 2014).

A incidência de hipocalcemia clínica varia em torno de 0-10% (DEGARIS e LEAN, 2008), sendo relatado por Reinhardt et al. (2011) maior incidência em vacas leiteiras conforme aumenta o número de lactações, variando de 4% para animais na segunda lactação, até 13% para vacas na sexta lactação.

A avaliação de parâmetros sanguíneos traz informações para monitoramento de doenças no período de transição e para melhor compreensão das alterações metabólicas e imunológicas (LEBLANC, 2010). Diversos trabalhos têm buscado entender melhor estas alterações metabólicas, avaliando componentes sanguíneos relacionados com metabolismo energético, mineral, proteico, perfil hepático e inflamatório (BIONAZ et al., 2007; BERTONI et al., 2008; OLIVEIRA et al., 2014; ALVARENGA et al., 2015; KAYANO e KIDA, 2015; PUTMAN et al., 2018). Porém, os trabalhos que avaliam diferentes parâmetros sanguíneos de vacas com hipocalcemia clínica são escassos.

Em vista disso, objetivo deste estudo foi avaliar as alterações hematológicas e bioquímicas presentes na hipocalcemia clínica, de ocorrência natural, além de correlacionar com as características clínicas e as doenças concomitantes.

#### 4.2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor Palotina da UFPR (CEUA/Palotina), protocolo n° 15/2019.

Foram avaliadas 35 vacas leiteiras no período de até 30 dias após o parto, atendidas pela Veterinária Hümmeblau, no município de Maripá-PR, as vacas variavam de raça, sendo Holandesa Preto e Branco, Jersey e seus Cruzamentos; oriundas de propriedades leiteiras da região Oeste do Paraná, com no máximo 50 vacas em lactação e produção de leite média de 20 a 30L/vaca/dia; criadas em regime semi-intensivo e intensivo, como *Free-stall* ou *Compost barn*.

Dentre as vacas avaliadas, quinze vacas apresentaram quadro de hipocalcemia clínica (n=15), confirmada através da manifestação clínica de decúbito persistente; resposta positiva à terapia com borogluconato de cálcio intravenoso, conseguindo manter-se em estação após o tratamento; e por apresentar valores séricos de cálcio total abaixo do valor de referência para a espécie, de 8mg/dL, estabelecido por Goff (2008, 2015). Quanto à apresentação clínica, foi definido o estágio de hipocalcemia, de acordo com Radostitis et al. (2002). A solicitação de atendimento médico veterinário não aconteceu para vacas hipocalcêmicas no estágio 1 e, portanto, vacas neste estágio não foram avaliadas no trabalho, vacas no estágio 2 foram caracterizadas pelo decúbito esternal (n=7) e no estágio 3, por decúbito lateral (n=8).

Foram coletados dados como número de partos/lactações e tempo após o parto. Foi avaliado o escore de condição corporal (ECC), classificando os animais de um a cinco, sendo considerado um para vacas extremamente magras e cinco para extremamente obesas (WILDMAN et al., 1982; ROCHE et al., 2009).

A presença de doenças concomitantes foram definidas como distocia, quando o parto necessitou de intervenção humana; cetose, para vacas com aumento da concentração de corpos cetônicos, sendo BHB acima de 1,4 mmol/L; mastite clínica, quando presente alteração macroscópica do leite em cor, redução de viscosidade, grumos, coágulos, podendo estar acompanhada de alterações sistêmicas e da glândula mamária; mastite subclínica, quando ocorreu aumento da viscosidade e/ou mudança de cor no *California Mastitis Test*, sem alterações descritas para a mastite

clínica; retenção de placenta, caso houvesse retenção dos anexos embrionários por mais de 12 horas após o parto.

Para comparação dos dados foi estabelecido grupo controle (n=20). Para formação deste grupo, no momento em que o médico veterinário ia para o atendimento das vacas doentes, se existissem outras vacas da mesma propriedade no período pós-parto de até 30 dias, era realizada a avaliação destas vacas e, se consideradas saudáveis após exame clínico, fizeram parte do grupo controle. Os parâmetros avaliados nestas vacas foram os mesmos que para as vacas com hipocalcemia.

O sangue venoso foi coletado através da punção da veia coccígea, sendo acondicionado 2ml em tubo com EDTA e 8ml em tubo seco. Algumas gotas de sangue foram utilizadas para avaliação da concentração sanguínea de glicose e de beta-hidroxibutirato, através da técnica de bioquímica seca, com tiras teste para cada um dos metabólitos mensurados, utilizando aparelho *FreeStyle Optimun Neo, Abbott®*.

As amostras de sangue foram analisadas no Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Veterinário da UFPR, Setor Palotina. Para a realização do hemograma, as contagens de hemácias, leucócitos e plaquetas, e a determinação da concentração de hemoglobina foram obtidas através contador automático de células, marca *Mindray®*, modelo BC-2800VET. O hematócrito foi mensurado por meio de centrifugação de capilar a 11.000rpm/5min. A contagem diferencial de leucócitos e a avaliação morfológica das células foi realizada em esfregaços sanguíneos corados com kit panótico® e visualizados por microscopia óptica em aumento de 1000x.

Para determinação da concentração de fibrinogênio foi utilizado o método de desnaturação. Dois capilares foram preenchidos com sangue, um passou por banho-maria à 57°C/3min, em seguida, ambos foram centrifugados a 11.000rpm/5min e a concentração de proteína foi mensurada no plasma por refratometria. A diferença entre os resultados da concentração de proteína entre os capilares, multiplicada por 1000, forneceu a concentração de fibrinogênio em mg/dL.

Os exames bioquímicos foram realizados pelo método de espectrofotometria, as amostras do tubo seco foram centrifugados a 3.000rpm/5min e o sobrenadante utilizado para mensurações em analisador bioquímico automático, marca *Mindray®*, modelo BS120. Foi realizada a mensuração das atividades séricas de aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), gama-glutamil transferase (GGT), creatina quinase (CK) e houve mensuração das concentrações de cálcio total, fósforo, magnésio, colesterol, triglicerídeos, ureia, creatinina, proteínas totais e albumina. A

concentração de globulinas foi obtida pela diferença entre a concentração de albumina e a concentração de proteínas totais.

Os resultados de cada animal com hipocalcemia foram comparados com intervalos de referência mais adequados para espécie, sexo e fase lactacional dos animais (Quadro 1).

QUADRO 1: PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS UTILIZADOS NO TRABALHO.

Parâmetros	Intervalo de referência (unidade)	Fonte
Eritrócitos	5,1 - 7,6 clls $\times 10^6/\mu\text{L}$	GEORGE et al., 2010; SHARKEY e OVERMANN, 2015a
Hemoglobina	8,5 – 12,2 g/dL	
Hematócrito	22 – 33%	
VCM	38 – 50fL	
CHCM	36 – 39g/dL	
Plaquetas	193.000 - 637.000/ $\mu\text{L}$	GEORGE et al., 2010
Leucócitos	4.900 - 12.000 clls/ $\mu\text{L}$	GEORGE et al., 2010; SHARKEY e OVERMANN, 2015b
Neutrófilos Bastonetes	Raro	
Neutrófilos Segmentados	1.800 - 6.300 clls/ $\mu\text{L}$	
Linfócitos	1.600 - 5.600 clls/ $\mu\text{L}$	
Monócitos	0 – 800 clls/ $\mu\text{L}$	
Eosinófilos	0 – 900 clls/ $\mu\text{L}$	
Fibrinogênio	200 – 700 mg/dL	JOHNS, 2015
Proteínas Totais	6,74 - 7,46 g/dL	KANEKO et al., 2008
Albumina	3 - 3,55 g/dL	
Globulinas	3 - 3,48 g/dL	
AST	78 – 132 UI/L	
FA	0 – 488 UI/L	
Creatinina	1,0 - 2,0 mg/dL	
Ureia	20 – 30 mg/dL	
Glicose	45 – 75 mg/dL	
Colesterol	80 – 120 mg/dL	
Triglicerídeos	0 – 14 mg/dL	
Fósforo	5,6 - 6,5 mg/dL	
Magnésio	1,8 - 2,3 mg/dL	
GGT	15 – 39 UI/L	STÄMPFLI e OLIVER-ESPINOSA, 2015
CK	44 – 211 UI/L	
Cálcio total	> 8 mg/dL	GOFF, 2008; GOFF, 2015
BHB	< 1,4 mmol/L	OETZEL, 2007; OETZEL, 2004

Fonte: O autor (2021).

LEGENDA: BHB: Beta-hidroxibutirato; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; AST: Aspartato Aminotransferase; FA: Fosfatase Alcalina; GGT: Gama-glutamil Transferase; CK: Creatina Quinase.

Em relação à análise estatística, os resultados dos grupos controle e hipocalcemia, passaram por teste de normalidade Shapiro-Wilk. Para comparação entre os grupos, foi utilizado o Teste t não pareado para variáveis paramétricas e empregou-se o teste de Mann Whitney para as variáveis não paramétricas.

Com os resultados obtidos das vacas hipocalcêmicas, foram avaliadas as correlações para todas variáveis. Para correlações paramétricas foi utilizado



coeficiente de Pearson ( $r$ ), e para correlações com dados não paramétricos correlação de Spearman ( $r_s$ ). Para variáveis qualitativas foram atribuídos números, permitindo a avaliação da correlação, sendo o decúbito esternal considerado (0) e decúbito lateral (1); presença de doença associada considerada (1) e ausência desta doença (0); raça Holandesa (1), Cruzamentos Jersolando (2) e Jersey (3). Para todas as análises o nível de significância considerado foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

#### 4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, foram avaliadas vacas nos estágios dois e três da hipocalcemia, pois a assistência veterinária foi solicitada somente para vacas em decúbito. Todas as vacas foram atendidas em no máximo um dia após o parto (Tabela 1). Apenas uma vaca imediatamente após, seis vacas aproximadamente 12 horas após e oito vacas cerca de 24 horas após o parto. Esse achado concorda com outros autores, que relataram que a maioria dos casos ocorrem dentro de um ou dois dias após o parto (GOFF, 2015; GONZÁLEZ et al., 2014), não sendo observados em nosso estudo, casos em até dois ou três dias após o parto, como sugerem outros autores (PEEK e DIVERS, 2008). Além disso, Goff (2008) discute que as concentrações sanguíneas mais baixas de cálcio ocorrem geralmente no período de 12 a 24 horas após o parto, o que é compatível com os momentos encontrados para as vacas do presente estudo.

TABELA 1: DISTRIBUIÇÃO DOS DADOS DE RAÇA, NÚMERO DE PARTOS, ECC E DIAS APÓS O PARTO (MEDIANA E AMPLITUDE) DE VACAS DO GRUPO CONTROLE E GRUPO HIPOCALCEMIA.

Parâmetros avaliados	Hipocalcemia (n=15)	Controle (n=20)	Valor “p”
Número de dias após o parto	1 (0-1)*	11 (0 -30)	<0,0001
Número de partos	4 (3-8)*	2 (1-6)	<0,0001
Raça	1 (1-3)	1 (1-3)	0,33
ECC	3,5 (2,75-5)*	3 (2,5-4,5)	0,025

FONTE: O autor (2021).

NOTA: \* Diferença significativa entre grupos ( $p < 0,05$ ).

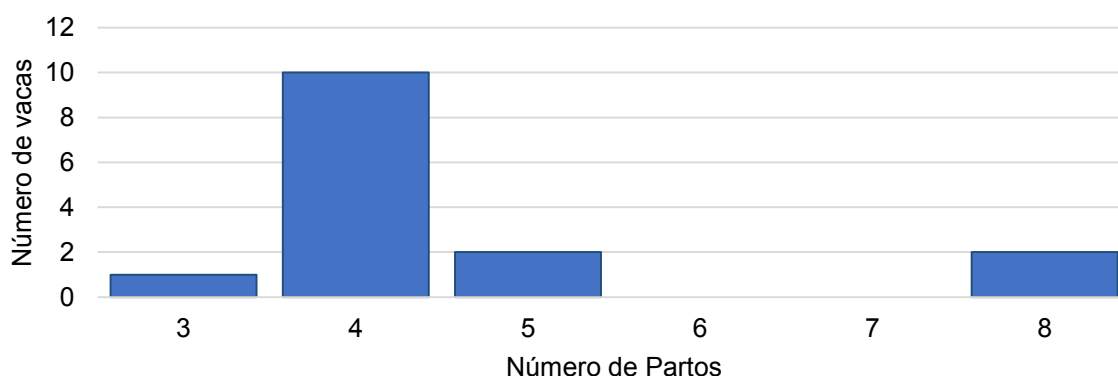
LEGENDA: ECC: Escore de Condição Corporal.

Todas as vacas eram multíparas, com número de partos variando entre três a oito, sendo que 66,7% encontravam-se no quarto parto (Tabela 1 e Gráfico 1). As vacas primíparas têm pouca chance de apresentar hipocalcemia clínica, que é mais comum em vacas multíparas, e o risco cresce conforme aumenta o número de lactações (EDDY, 2004; REINHARDT et al., 2011; GONZÁLEZ et al., 2014). Inclusive

o número de partos já foi indicado como sendo o principal fator de risco para a hipocalcemia (SABORÍO-MONTERO et al., 2017).

O efeito da idade/número de lactações no risco de hipocalcemia é influenciado por diversos fatores, sendo que conforme aumenta o número de partos existe elevação na produção de leite, gerando maior demanda de cálcio, e também ocorre redução na capacidade de mobilização do cálcio armazenado nos ossos, menos transporte ativo de cálcio no intestino e menor produção de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , o que reduz a absorção intestinal de cálcio (HORST et al., 1997).

GRÁFICO 1: NÚMERO DE PARTOS DAS VACAS COM HIPOCALCEMIA CLÍNICA.



FONTE: O autor (2021).

A ocorrência de hipocalcemia no quarto parto foi o mais comum nas vacas deste estudo, e embora Reinhardt et al. (2011) tenha encontrado maior incidência no sexto parto, as concentrações médias de cálcio sérico tiveram queda gradual da primeira à quarta lactação, atingindo a média mais baixa na quarta, o que pode ter relação com os resultados encontrados neste estudo. Comparado à vacas com três partos, as vacas de quarto parto tiveram 2,3 vezes mais chance de desenvolver hipocalcemia clínica, as de quinto parto 7,43 vezes mais chance, e com dois partos aproximadamente metade do risco que as de terceiro parto (ROCHE e BERRY, 2006). Diante disso, o risco tende a aumentar conforme aumenta o número de lactações, porém é importante considerar características do manejo das propriedades, uma vez que a quantidade de vacas que atingem a quinta, ou sexta lactação é menor comparada à quatro lactações, devido ao descarte ou mortalidade, o que pode ter influenciado nos resultados encontrados.

Quanto às doenças associadas à hipocalcemia no período de transição, 20% das vacas tiveram retenção de placenta e 47% tiveram mastite, sendo 33,5% de mastite subclínica e 13,5% de mastite clínica. A hipocalcemia reduz a contração muscular, tanto uterina, quanto do esfíncter do teto, fatores que em conjunto com a imunossupressão que ocorre neste período, aumentam o risco de desenvolvimento de retenção de placenta e de mastite, respectivamente (GOFF e HORST, 1997; GOFF, 2008). Um estudo encontrou que a ocorrência de hipocalcemia clínica foi o maior fator de risco para ocorrência de mastite clínica, além de também ter sido fator de risco para a retenção de placenta (HOSSEIN-ZADEH e ARDALAN, 2011). Deve ser ressaltado que vacas com hipocalcemia subclínica também apresentam maior risco de retenção de placenta (RODRÍGUEZ et al., 2017).

Houve correlação positiva entre o número de partos e a ocorrência ( $r_s = 0,65$ ;  $p = 0,009$ ) e a gravidade da mastite ( $r_s = 0,59$ ;  $p = 0,02$ ), o que está de acordo com Hossein-Zadeh e Ardalan (2011), que descreveram que vacas multíparas tiveram maior ocorrência de mastite clínica que primíparas. O aumento na ocorrência de mastite conforme maior é a idade da vaca está ligado, provavelmente, à maior facilidade de entrada de microrganismos pelo canal do teto e por infecções anteriores persistentes (EDMONDSON e BRAMLEY, 2004).

Quanto à raça das vacas que apresentaram hipocalcemia, 60% eram Holandesas Preto e Branco, 13% Jersoholanda e 27% Jersey. Foi observada correlação entre a maior proporção de raça Jersey com as menores concentrações de cálcio ( $r_s = -0,63$ ;  $p = 0,012$ ) e fósforo ( $r_s = -0,63$ ;  $p = 0,012$ ). A raça Jersey tem grande predisposição à hipocalcemia (SABORÍO-MONTERO et al., 2017), sendo que, vacas Jersey e o cruzamento Jersey x Holandesa têm, respectivamente, risco 4,96 e 2,44 maior de apresentar hipocalcemia quando comparadas às Holandesas (ROCHE e BERRY, 2006). Isto acontece, provavelmente, pois as Jersey têm maior concentração de cálcio no colostro e no leite, além de menos receptores intestinais para 1,25dihidroxitamina D3, limitando sua capacidade de absorção de cálcio no intestino (PEEK e DIVERS, 2008).

Das vacas atendidas, 60% tinha escore de condição corporal (ECC) maior ou igual a 3,5 e o restante estava entre 2,75 e 3,5. O ECC ideal para vacas ao parto é entre 3 e 3,25 (ROCHE et al., 2009), sendo que as vacas com escore maior ou igual

a 3,5 e menor ou igual a 2,5 apresentam maiores riscos de hipocalcemia clínica (ROCHE e BERRY, 2006).

Sabe-se que o consumo de matéria seca (CMS) diminui próximo ao parto, e isto reduz o cálcio disponível na dieta, fator que pode predispor o desenvolvimento da hipocalcemia (EDDY, 2004). Vacas com alto ECC possuem efeito inibitório mais acentuado no CMS próximo ao parto (GARNSWORTHY e TOPPS, 1982). Assim, o alto ECC pode agravar esta situação, reduzindo o CMS. Vacas com escores acima de 3,5, exibem redução no consumo de matéria seca, aumentando o risco de doenças metabólicas (ROCHE et al., 2009). Neste estudo foi encontrada correlação negativa, na qual maior ECC foi associado às menores concentrações de fósforo ( $r_s = -0,55$ ;  $p = 0,04$ ). A dieta é a principal fonte de fósforo e existe correlação entre as concentrações plasmáticas de fósforo e a quantidade absorvida no intestino (GOFF, 2015), desta forma, a redução das concentrações de fósforo pode ser pelo menor CMS nas vacas com alto ECC.

O aumento do hematócrito, do número de eritrócitos, das concentrações de hemoglobina, creatinina e de proteínas séricas indicaram presença de desidratação nas vacas hipocalcêmicas deste estudo, o que pode ter sido causado pelo menor consumo hídrico, sendo que, devido à incapacidade de se levantar, os animais não foram capazes de manter a ingestão hídrica adequada. Além disso, um estudo avaliando CMS e ingestão de água no período próximo ao parto concluiu que existe forte correlação entre eles, ocorrendo diminuição de ambos, o que mostra que o consumo de água pode refletir o consumo de matéria seca nesse período (LUKAS et al., 2008).

A policitemia foi presente em 86,7% das vacas (Gráfico 2), havendo diferença para o grupo controle nos valores de hematócrito (Tabela 2). A policitemia é achado comum em ruminantes, principalmente devido à desidratação (JONES e ALLISON, 2007). Os valores de cálcio tiveram correlação negativa com o hematócrito ( $r_s = -0,53$ ;  $p = 0,041$ ), ou seja quanto maior o hematócrito, menor a calcemia, o que pode fazer com que seja um parâmetro que indique gravidade da hipocalcemia. Além disso, o maior ECC teve correlação positiva com o número de eritrócitos ( $r = 0,59$ ;  $p = 0,025$ ), a concentração de hemoglobina ( $r = 0,66$ ;  $p = 0,02$ ) e o hematócrito ( $r = 0,71$ ;  $p = 0,01$ ), o que pode estar ligado ao quadro de desidratação mais intenso nestes animais, uma

vez que, como já discutido, animais com alto ECC tem menor CMS, que pode estar relacionado com o menor consumo de água.

TABELA 2: VALORES (MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO) DO HEMOGRAMA DE VACAS DO GRUPO CONTROLE E DO GRUPO HIPOCALCEMIA.

<b>Parâmetros avaliados (unidades)</b>	<b>Hipocalcemia (n=15)</b>	<b>Controle (n=20)</b>	<b>Valor “p”</b>
Eritrócitos (cils $\times 10^6/\mu\text{L}$ )	7,73 $\pm$ 1,35*	6,29 $\pm$ 0,75	0,002
Hemoglobina (g/dL)	13,49 $\pm$ 2,26*	10,14 $\pm$ 0,97	<0,0001
Hematócrito (%)	40,6 $\pm$ 7,35*	29,9 $\pm$ 3,43	<0,0001
VCM (fL)	51,99 $\pm$ 5,72	47,9 $\pm$ 5,77	0,055
CHCM (g/dL)	33,85 $\pm$ 2,6	34,02 $\pm$ 1,44	0,83
Leucócitos Totais (cils/ $\mu\text{L}$ )	20.020 $\pm$ 14.669*	11.676 $\pm$ 4.189	0,039
Neutrófilos Bastonetes (cils/ $\mu\text{L}$ )	219 $\pm$ 404*	0 $\pm$ 0	0,01
Neutrófilos Segmentados (cils/ $\mu\text{L}$ )	9.988 $\pm$ 4.946*	3.698 $\pm$ 1.836	0,0002
Eosinófilos (cils/ $\mu\text{L}$ )	39 $\pm$ 76*	578 $\pm$ 497	<0,0001
Linfócitos (cils/ $\mu\text{L}$ )	9.022 $\pm$ 12.091	6.909 $\pm$ 3.380	0,16
Monócitos(cils/ $\mu\text{L}$ )	752 $\pm$ 490*	443 $\pm$ 337	0,039
Plaquetas (cils/ $\mu\text{L}$ )	386.714 $\pm$ 134.972	393.778 $\pm$ 88.503	0,86

FONTE: O autor (2021).

NOTA: \* Diferença significativa entre grupos ( $p < 0,05$ ).

LEGENDA: VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média.

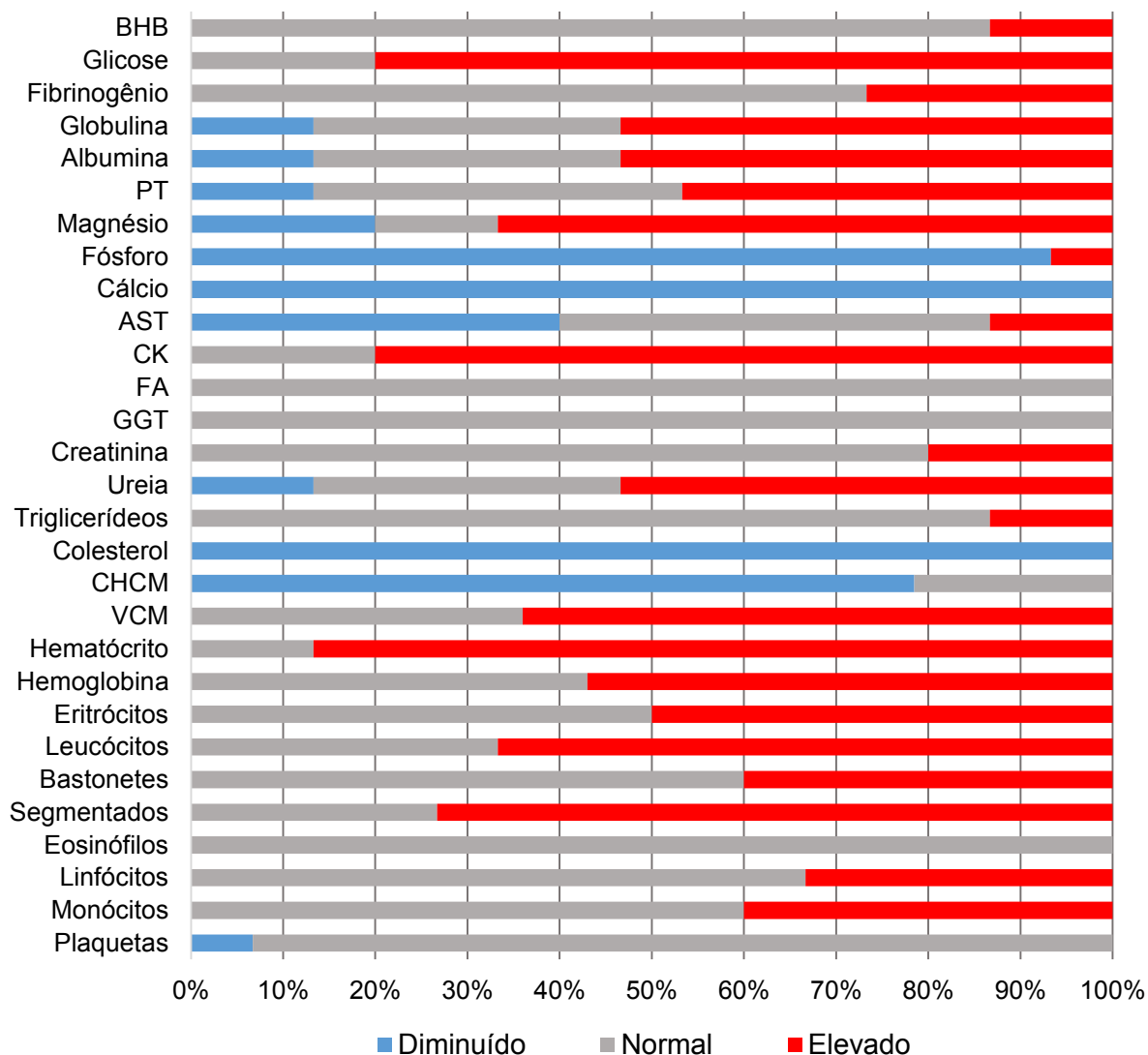
Quanto à concentração de proteínas totais, houve aumento em 46% das vacas (Gráfico 2) e cerca de metade das vacas tinham hiperalbunemia e hiperglobulinemia. Isto está de acordo com a hipótese de desidratação, pois a hiperproteinemia, com elevação da concentração de albumina e globulinas é comum em consequência deste quadro (EVANS, 2011). Além disso, a desidratação pode ser considerada como única causa de hiperalbunemia (RUSSELL e ROUSSEL, 2007).

Quando comparado ao grupo controle, as vacas com hipocalcemia tiveram maiores valores de creatinina (Tabela 3), sendo que 20% tinham valores acima do intervalo de referência (Gráfico 2). Não houve diferença nos valores de ureia entre os grupos, todavia, pouco mais da metade das vacas (53,4%) apresentou valores aumentados comparado ao intervalo de referência. Tanto a creatinina como a ureia são indicativos da filtração glomerular, e podem elevar-se nos estados de desidratação, porém a creatinina é um indicativo superior para ruminantes, uma vez que é pouco afetada pela dieta, pelo catabolismo proteico e, ainda, a ureia pode ser reciclada no rúmen (RUSSELL e ROUSSEL, 2007). Desta forma, a ureia pode sofrer variação por mais fatores, podendo não refletir apenas o quadro de desidratação.

A liberação de cortisol é característica e essencial para o processo fisiológico do parto (DAVIDSON e STABENFELDT, 2014) e, vacas com hipocalcemia podem apresentar maiores concentrações de cortisol quando comparadas a vacas

normocalcêmicas, havendo inclusive correlação negativa entre cortisol e valores de cálcio e fósforo (HAYASHI et al., 1979; HORST e JORGENSEN, 1982; RODRIGUES et al., 2020).

GRÁFICO 2: FREQUÊNCIA DE VACAS DO GRUPO HIPOCALCEMIA EM RELAÇÃO AOS PARÂMETROS SANGÜÍNEOS.



FONTE: O autor (2021).

LEGENDA: BHB: Beta-hidroxi-butarato; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; AST: Aspartato Aminotransferase; FA: Fosfatase Alcalina; GGT: Gama-glutamil Transferase; CK: Creatina Quinase PT: Proteínas Totais.

Os bovinos expostos a glicocorticóides tanto exógenos quanto endógenos podem apresentar o leucograma de estresse (TORNQUIST e RIGAS, 2010), no qual as alterações presentes são neutrofilia, tipicamente com neutrófilos maduros, associada à linfopenia, eosinopenia e a presença de monocitose é variável nos ruminantes (JONES e ALLISON, 2007). Alterações semelhantes às encontradas neste

estudo, no qual o leucograma das vacas hipocalcêmicas apresentou alterações, com elevação do número de leucócitos e neutrófilos, havendo leucocitose por neutrofilia em 67% das vacas, redução do número de eosinófilos, aumento do número de monócitos, com monocitose em 40% dos animais (Tabela 2 e Gráfico 2). Não houve linfopenia e sim linfocitose em 33% das vacas, o que difere do leucograma de estresse esperado, mas está em acordo com a linfocitose associada à neutrofilia, alteração encontrado em vacas no período após parto no estudo de Trajano (2013).

O leucograma de estresse agudo/resposta de excitação, por resultado da liberação de epinefrina, causa leucocitose por neutrofilia e linfocitose (JONES e ALLISON, 2007). Diante da ausência de linfopenia e presença de linfocitose na presente avaliação de vacas hipocalcêmicas, deve-se considerar a influência do cortisol e também da epinefrina.

TABELA 3: VALORES DOS EXAMES BIOQUÍMICOS QUANTITATIVOS (MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO) E QUALITATIVOS (MEDIANA E AMPLITUDE) DE VACAS DO GRUPO HIPOCALCEMIA E GRUPO CONTROLE.

Parâmetros avaliados (unidades)	Hipocalcemia (n=15)	Controle (n=20)	Valor “p”
BHB (mmol/L)	0,77 $\pm$ 0,45	0,64 $\pm$ 0,24	0,62
Glicose (mg/dL)	126,7 $\pm$ 70,76*	53,32 $\pm$ 10,45	<0,0001
Fibrinogênio (mg/dL)	600 (400-1200)*	400 (200-600)	0,008
Proteínas Totais (g/dL)	7,4 $\pm$ 0,8	7,2 $\pm$ 0,6	0,39
Albumina (g/dL)	3,47 $\pm$ 0,46	3,4 $\pm$ 0,31	0,62
Globulinas (g/dL)	3,9 $\pm$ 1,1	3,8 $\pm$ 0,6	0,67
Cálcio (mg/dL)	3,6 $\pm$ 0,9*	9,2 $\pm$ 1,1	<0,0001
Fósforo (mg/dL)	3,4 $\pm$ 1,5*	8 $\pm$ 2	<0,0001
Magnésio (mg/dL)	2,56 $\pm$ 0,62	2,58 $\pm$ 0,32	0,95
AST (UI/L)	107 $\pm$ 73	82 $\pm$ 27	0,17
FA (UI/L)	82 $\pm$ 44	70 $\pm$ 48	0,36
GGT (UI/L)	24 $\pm$ 6	21 $\pm$ 8	0,082
Ureia (mg/dL)	33 $\pm$ 12	28 $\pm$ 14	0,25
Creatinina (mg/dL)	1,7 $\pm$ 0,5*	1,3 $\pm$ 0,2	0,0095
CK (UI/L)	1.213 $\pm$ 2.675*	115 $\pm$ 119	0,0006
Triglicerídeos (mg/dL)	12 $\pm$ 4,5	11 $\pm$ 3	0,55
Colesterol (mg/dL)	60 $\pm$ 12*	90 $\pm$ 25	<0,0001

FONTE: O autor (2021).

NOTA: \* Diferença significativa entre grupos ( $p < 0,05$ ).

LEGENDA: BHB: Beta-hidroxibutirato; AST: Aspartato Aminotransferase; FA: Fosfatase Alcalina; GGT: Gama-glutamil Transferase; CK: Creatina Quinase.

As vacas do grupo hipocalcemia tiveram maiores concentrações sanguíneas de glicose, e a hiperglicemia foi presente em 80% das vacas hipocalcêmicas (Tabela 3 e Gráfico 2). Este aumento da glicemia pode ocorrer pela maior concentração de glicocorticóides no sangue (ALLISON, 2012c). Alguns autores relatam que a hiperglicemia ocorre na hipocalcemia (HAYASHI et al., 1979; RUSSELL e ROUSSEL,

2007), todavia, também é relatada a ocorrência de hiperglicemia logo após o parto, mesmo em vacas sadias (EDDY, 2004). A hiperglicemia também pode estar relacionada à adaptação fisiológica do metabolismo da vaca, que durante o final da gestação e início da lactação, passa por estado de resistência à insulina, a fim de disponibilizar mais glicose para o feto e a glândula mamária (HAYIRLI, 2006).

A cetose tipo 2 em vacas está relacionada com a resistência à insulina, ocorrendo principalmente em vacas obesas, que apresentam níveis altos, tanto de BHB como glicose, cursando com quadro variável de lipidose hepática (HOLTENIUS e HOLTENIUS, 1996; GONZÁLEZ et al., 2014). Dos animais estudados, dois apresentaram quadro de cetose tipo 2 associada à hipocalcemia (13%), com concentrações sanguíneas de glicose e BHB de 281 mg/dL e 1,7 mmol/L; 282 mg/dL e 1,8 mmol/L, respectivamente. Nestas duas vacas o aumento de BHB e glicemia foi muito superior às outras vacas hipocalcêmicas, nas quais a maior glicemia foi de 155 mg/dL, e não houve elevação da concentração de BHB. A cetose teve correlação positiva com a glicemia ( $r_s=0,59$ ;  $p= 0,02$ ) e a concentração de corpos cetônicos ( $r_s= 0,60$ ;  $p= 0,018$ ). Ambas as vacas tinham alto escore de condição corporal, acima de 4, e O'Hara et al. (2015) e Wu et al. (2020) relataram que o ECC alto no momento do parto está associado à maior resistência à insulina.

Para Wu et al. (2020) vacas com maior escore de condição corporal apresentaram maior concentração sérica de triglicerídeos. Para Pires et al. (2007) a hiperlipidemia também aumenta a resistência à insulina. A hiperlipidemia e a resistência à insulina podem ter influenciado na não adaptação do metabolismo energético das vacas com cetose deste estudo, sendo que ambas as vacas apresentaram hipertrigliceridemia. Houve ainda, correlação positiva entre concentrações de triglicerídeos e a presença de cetose ( $r_s= 0,59$ ;  $p= 0,019$ ).

O fibrinogênio é uma proteína de fase aguda positiva importante em bovinos como indicador de processos inflamatórios (EVANS, 2011), no presente estudo houve aumento da concentração de fibrinogênio em quatro vacas hipocalcêmicas (26,5%), sendo que duas apresentavam mastite clínica e concentração de fibrinogênio elevada (800mg/dL), confirmando o quadro inflamatório e em outras duas vacas, que apresentaram cetose tipo 2, sem manifestações de outras afecções inflamatórias, a concentração de fibrinogênio encontrava-se acima de 1000 mg/dL. Assim, houve correlação positiva entre a presença de cetose e as concentrações de fibrinogênio ( $r_s=$



0,64;  $p= 0,014$ ). A cetose teve correlação positiva também com o número de bastonetes ( $r_s=0,59$ ;  $p= 0,029$ ), sendo que, os bastonetes também indicam a presença de quadro inflamatório (WEISER, 2012).

Diante da relação entre cetose, hipocalcemia e hiperfibrinogenemia, percebe-se a associação do quadro metabólico e inflamatório. Para vacas que desenvolveram cetose, já foi relatado o aumento das concentrações sanguíneas de marcadores inflamatórios tanto antes quanto após o parto (ABUJAMIEH et al., 2016). Vacas obesas mobilizam mais gordura, aumentando a concentração de AGNE, que são associados à inflamação e podem induzir a maior expressão do fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ). O TNF- $\alpha$  altera vias metabólicas e pode aumentar a resistência à insulina e às concentrações de AGNE, retroalimentando esse ciclo metabólico (SORDILLO e RAPHAEL, 2013). Por outro lado, a inflamação de baixa intensidade crônica, parece ser capaz de alterar a homeostase, também aumentando a resistência à insulina, o balanço energético negativo e levando à doenças metabólicas, todavia, estabelecer a relação causa-efeito é difícil, embora saiba-se que o quadro inflamatório está presente em humanos com obesidade e diabetes tipo 2 (BRADFORD et al., 2015). No presente estudo, nas vacas com alterações metabólicas, apresentando cetose tipo 2 e hipocalcemia, houve indícios da presença de resposta inflamatória.

Em animais em decúbito é importante a avaliação das enzimas AST e CK, que tem suas atividades aumentadas em casos de necrose e lesão muscular, sendo que, dentre elas, a CK é músculo-específica (RUSSELL e ROUSSEL, 2007). Houve correlação positiva entre CK e AST ( $r_s=0,62$ ;  $p= 0,015$ ). Das vacas avaliadas 80% apresentavam elevação de CK (Gráfico 2), havendo aumento quando comparadas ao grupo controle (Tabela 3). Já para a AST, não houve diferença em relação ao grupo controle e apenas duas vacas (13%) apresentaram valores aumentados. Isto se deve à elevação dos valores de AST ser mais lenta após lesão muscular, sendo que o valor máximo da CK ocorre em 6 a 12 horas e da AST em 24 a 36 horas (ALLISON, 2012a). Neste estudo, a elevação da atividade da AST teve correlação com a redução da concentração de cálcio total ( $r_s= -0,52$ ;  $p= 0,047$ ), ou seja, ocorreu em vacas com hipocalcemia mais acentuada, podendo ser usado para avaliação da gravidade/progressão da doença. Além disso, houve correlação entre o decúbito lateral com maiores valores de CK ( $r_s= 0,62$ ;  $p= 0,014$ ), indicando maior lesão muscular de acordo com o tipo de decúbito.

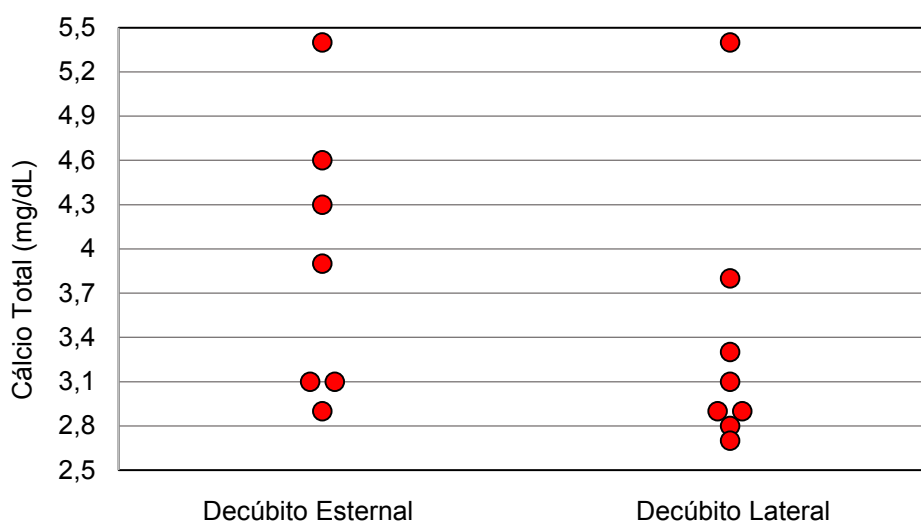
O aumento de CK foi correlacionado com maior número de neutrófilos segmentados ( $r_s=0,54$ ;  $p= 0,038$ ) e monócitos ( $r_s=0,56$ ;  $p= 0,03$ ). Estas células fazem parte da resposta inflamatória em lesões teciduais (JONES e ALLISON, 2007), e assim, nas vacas hipocalcêmicas avaliadas, o referido aumento pode ter sido em decorrência da lesão muscular.

Neste estudo todas as vacas apresentaram hipocolesterolemia (Gráfico 2). A concentração baixa de colesterol reflete menor síntese hepática (ALLISON, 2012b). As vacas avaliadas não recebiam alimentos de origem animal, que é fonte de colesterol, dependendo totalmente da síntese hepática (BRUSS, 2008). Além disso, na fase logo após o parto, de maneira fisiológica, ocorrem os menores valores de colesterol durante o ciclo lactacional (KESSLER et al., 2014). A redução no consumo de matéria seca e, conseqüentemente, diminuição do total de lipídeos na dieta, também podem refletir em menores concentrações séricas de colesterol (BERTONI e TREVISI, 2013). Assim, diversos fatores podem ter influenciado na redução de colesterol encontrada nas vacas hipocalcêmicas.

Quanto aos valores de cálcio, as vacas apresentaram decúbito com valores de cálcio total abaixo de 5,5 mg/dL. Existe variação no ponto de corte de cálcio sérico em que a vaca atinge o decúbito, sendo relatado concentrações sanguíneas de 4,5 mg/dL (GONZÁLEZ et al., 2014), 5 mg/dL (GOFF, 2015; PEEK e DIVERS, 2008) e de 6 mg/dL (EDDY, 2004).

Para as vacas do grupo hipocalcemia os valores de cálcio total variaram de 2,7 a 5,4 mg/dL. Não houve correlação entre os valores de cálcio e o tipo de decúbito ( $r_s=-0,39$ ;  $p= 0,15$ ), mostrando que os menores valores de cálcio não foram associados à maior gravidade, ou seja decúbito lateral, provavelmente devido a ampla variação dos resultados obtidos (Gráfico 3). Mais fatores podem ter influenciado na condição de decúbito esternal ou lateral. Concentrações baixas de magnésio e fósforo também podem levar o animal ao decúbito, sendo essencial a avaliação destes três minerais em animais com esta manifestação clínica (RUSSELL e ROUSSEL, 2007; DEGARIS e LEAN, 2008; GOFF, 2015). Outro fator importante é que, neste estudo, não foi mensurado o cálcio ionizado. O cálcio ionizado indica a concentração de cálcio disponível, já as concentrações de cálcio total podem variar por outros fatores, como as concentrações de proteínas sanguíneas (STOCKHAM e SCOTT, 2011).

GRÁFICO 3: CÁLCIO SÉRICO TOTAL DE VACAS COM HIPOCALCEMIA CONFORME O TIPO DE DECÚBITO.



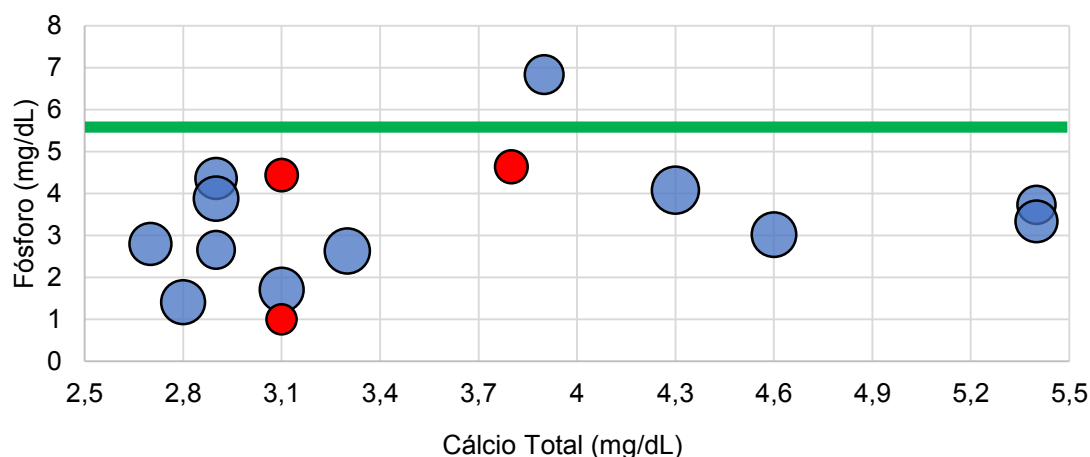
FONTE: O autor (2021).

A hipocalcemia é acompanhada muitas vezes por hipofosfatemia e hipomagnesemia (EDDY, 2004). Das vacas com hipocalcemia, 93% também apresentavam hipofosfatemia (Gráfico 2 e 4). A demanda de fósforo para o colostro e o leite também é alta, o que promove queda abrupta de seus valores plasmáticos e, além disso, a secreção de paratormônio aumenta as perdas de fósforo na saliva e urina (GOFF, 2015). A função do paratormônio é elevar as concentrações sanguíneas de cálcio e reduzir a de fósforo, pois mesmo reabsorvendo mais fósforo e cálcio dos ossos, a excreção de fósforo é aumentada (GRECO e STABENFELDT, 2014), e através destes mecanismos é possível justificar a associação da hipocalcemia e hipofosfatemia.

Quanto ao magnésio, não houve diferença da concentração sanguínea das vacas do grupo hipocalcemia quando comparadas ao grupo controle (Tabela 3), entretanto, 20% das vacas hipocalcêmicas apresentaram hipomagnesemia (Gráfico 2 e 4). A hipomagnesemia prejudica a capacidade de manutenção da homeostase do cálcio levando à hipocalcemia (GOFF, 2008), uma vez que reduz a secreção e a sensibilidade dos tecidos ao paratormônio (GOFF, 2006). A concentração de magnésio sanguínea depende da absorção gastrointestinal e da utilização do magnésio para transporte celular, retenção nos ossos, secreções endógenas, crescimento fetal, produção de leite e excreção urinária (MARTÍN-TERESO e MARTENS, 2014). Desta forma, quantidades inadequadas de magnésio na dieta ou

outro fator que dificulte sua absorção, levam à hipomagnesemia (GOFF, 2008). Diante dos achados neste estudo, é possível que varie a relação entre hipomagnesemia e hipocalcemia, principalmente de acordo com as condições alimentares do rebanho, e como a hipomagnesemia foi presente em apenas três animais deste estudo (Gráfico 4), pode-se afirmar que não foi determinante da hipocalcemia na maioria dos casos.

GRÁFICO 4: CONCENTRAÇÕES SÉRICAS DE CÁLCIO, FÓSFORO E MAGNÉSIO DAS VACAS COM HIPOCALCEMIA CLÍNICA.



FONTE: O autor (2021).

LEGENDA: ● cada círculo vermelho corresponde a uma vaca com concentração de magnésio abaixo do intervalo de referência; ● cada círculo azul corresponde a uma vaca com concentração de magnésio dentro ou acima do intervalo de referência; O tamanho dos círculos é proporcional à concentração de magnésio; ■ A faixa verde representa o limiar de concentração de fósforo sanguíneo para vacas leiteiras.

#### 4.4 CONCLUSÃO

A hipocalcemia clínica afeta principalmente vacas a partir da terceira lactação e vacas da raça Jersey e seus cruzamentos tem correlação com menores concentrações séricas de cálcio e fósforo. As principais alterações sanguíneas das vacas com hipocalcemia são a redução das concentrações séricas de cálcio, fósforo e colesterol, e a presença de indicadores de desidratação como policitemia, hiperproteinemia, hiperalbuminemia e azotemia. Além disso, a hiperglicemia e a leucocitose por neutrofilia são comuns, o que pode ser em consequência do aumento do cortisol. O aumento de CK indica lesão muscular, alteração comum devido ao

decúbito, principalmente no decúbito lateral. Mastite, retenção de placenta e cetose tipo 2 são doenças associadas à hipocalcemia clínica.

## REFERÊNCIAS

- ABUJAMIEH, M.; KVIDERA, S. K.; FERNANDEZ, M. V. S.; NAYERI, A.; UPAH, N. C.; NOLAN, E. A.; LEI, S. M.; DEFRAIN, J. M.; GREEN, H. B.; SCHOENBERG, K. M.; TROUT, W. E.; BAUMGARD, L. H. Inflammatory biomarkers are associated with ketosis in periparturient Holstein cows. **Research in veterinary science**, v. 109, p. 81-85, 2016.
- ALLISON, R. W. Laboratory Detection of Muscle Injury. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012a. p. 476-479.
- ALLISON, R. W. Laboratory Evaluation of the Liver. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012b. p. 401-424.
- ALLISON, R. W. Laboratory Evaluation of the Pancreas and Glucose Metabolism. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012c. p. 425-440.
- ALVARENGA, E. A.; MOREIRA, G. H. F. A.; FACURY FILHO, E. J.; LEME, F. O. P.; COELHO, S. G.; MOLINA, L. R.; LIMA, J. A. M.; CARVALHO, A. U. Avaliação do perfil metabólico de vacas da raça Holandesa durante o período de transição. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 3, p. 281-290, 2015.
- BERTONI, G.; TREVISI, E. Use of the liver activity index and other metabolic variables in the assessment of metabolic health in dairy herds. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 413-431, 2013.
- BERTONI, G.; TREVISI, E.; HAN, X.; BIONAZ, M. Effects of Inflammatory Conditions on Liver Activity in Puerperium Period and Consequences for Performance in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, n.9, p. 3300-3310, 2008.
- BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L.; LIBRANDI, F.; FERRARI, A.; BERTONI, G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 4, p. 1740-1750, 2007.
- BRADFORD, B. J.; YUAN, K.; FARNEY, J. K.; MAMEDOVA, L. K.; CARPENTER, A. J. Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. **Journal of Dairy Science**. v. 98, n. 10, p. 6631-6650, 2015.
- BRUSS, M. L. Lipids and Ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (6. Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Elsevier, 2008. p. 81-115.

DAVIDSON, A. P.; STABENFELDT, G. H. Gestação e Parto. In: KLEIN, B. G. (5. Ed.) **Cunningham tratado de Fisiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p. 431-438.

DEGARIS, P. J.; LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 58-69, 2008.

EDDY, R. G. Major Metabolic Disorders. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. (2. ed.) **Bovine Medicine, Diseases and Husbandry of Cattle**. Iowa: Blackwell Publishing, 2004. p. 781-803.

EDMONDSON, P. W.; BRAMLEY, A. J. Mastitis. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. (2. Ed.) **Bovine Medicine, Diseases and Husbandry of Cattle**. Iowa: Blackwell Publishing, 2004. p. 326-336.

EVANS, E. W. Proteins, Lipids, and Carbohydrates. In: LATIMER, K. S. (5. Ed.) **Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. Chichester: John Wiley & Sons, 2011. p. 173-210.

GARNSWORTHY, P. C.; TOPPS, J. H. The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. **Animal Science**, v. 35, n. 1, p. 113-119, 1982.

GEORGE, J. W.; SNIPES, J.; LANE, V. M. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 39, n. 2, p. 138-148, 2010.

GOFF, J. P. Calcium, Magnesium, and Phosphorus. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p.1258-1269.

GOFF, J. P. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. **Animal feed science and technology**, v. 126, n. 3-4, p. 237-257, 2006.

GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The veterinary journal**, v. 176, n. 1, p. 50-57, 2008.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 7, p. 1260-1268, 1997.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CORRÊA, M. N.; SILVA, S. C. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. 2. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2014. 344 p.

GRECO, D. S.; STABENFELDT, G. H. Glândulas endócrinas e suas funções. In: KLEIN, B. G. (5. Ed.) **Cunningham tratado de Fisiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p. 374-407.

HAYASHI, T; ONO, H.; SATO, K.; MIYAKE, M. Plasma levels of cortisol, free fatty acids, glucose and calcium in cows with milk fever. **The Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 41, n. 6, p. 617-621, 1979.

HAYIRLI, A. The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. **Veterinary research communications**, v. 30, n. 7, p. 749-774, 2006.

HOLTENIUS, P.; HOLTENIUS, K. New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: a review. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 43, n. 1-10, p. 579-587, 1996.

HORST, R. L.; GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A.; BUXTON, D. R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1269-1280, 1997.

HORST, R. L.; JORGENSEN, N. A. Elevated plasma cortisol during induced and spontaneous hypocalcemia in ruminants. **Journal of dairy science**, v. 65, n. 12, p. 2332-2337, 1982.

HOSSEIN-ZADEH, N. G.; ARDALAN, M. Cow-specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. **Veterinary research communications**, v. 35, n. 6, p. 345-354, 2011.

JOHNS, J. L. Alterations in Blood Proteins. In: SMITH, B. P. (5. ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 386-392.

JONES, M. L.; ALLISON, R. W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 377-402, 2007.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Elsevier, 2008. 904 p.

KAYANO, M.; KIDA, K. Identifying alterations in metabolic profiles of dairy cows over the past two decades in Japan using principal component analysis. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 12, p. 8764-8774, 2015.

KESSLER, E. C.; GROSS, J. J.; BRUCKMAIER, R. M.; ALBRECHT, C. Cholesterol metabolism, transport, and hepatic regulation in dairy cows during transition and early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 9, p. 5481-5490, 2014.

LEBLANC, S. J. Monitoring Metabolic Health of Dairy Cattle in the Transition Period. **Journal of Reproduction and Development**. v. 56, p. 29-35, 2010.

LUKAS, J. M.; RENEAU, J. K.; LINN, J. G. Water intake and dry matter intake changes as a feeding management tool and indicator of health and estrus status in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 9, p. 3385-3394, 2008.

MARTÍN-TERESO, J.; MARTENS, H. Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease). **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 643-670, 2014.

OETZEL, G. R. Herd-level ketosis—diagnosis and risk factors. In: Preconference seminar 7C Dairy Herd Problem Investigation Strategies: Transition Cow Troubleshooting. **Proceedings of the 40th Annual Conference American Association of Bovine Practitioners**, Vancouver. 2007. p. 67-91.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 651-674, 2004.

- O'HARA, L. A.; BAGE, R.; HOLTENIUS, K. Impaired insulin sensitivity and reduced fertility in obese dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 57, s. 1, p. 1, 2015.
- OLIVEIRA, R. S. B. R.; MOURA, A. R. F.; PÁDUA, M. F. S.; BARBON, I. M.; SILVA, M. E. M.; SANTOS, R. M.; MUNDIM, A. V.; SAUT, J. P. E. Perfil metabólico de vacas mestiças leiteiras com baixo escore de condição corporal no periparto. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 362-368, 2014.
- PEEK, S. F.; DIVERS, T. J. Metabolic Diseases. In: PEEK, S. F.; DIVERS, T. J. (2. Ed.) **Rebhun's Diseases of Dairy Cattle**. St. Louis: Elsevier Inc., 2008. p. 590-603.
- PIRES, J. A. A.; SOUZA, A. H.; GRUMMER, R. R. Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 6, p. 2735-2744, 2007.
- PUTMAN, A. K.; BROWN, J. L.; GANDY, J. C.; WISNIESKI, L.; SORDILLO, L. M. Changes in biomarkers of nutrient metabolism, inflammation, and oxidative stress in dairy cows during the transition into the early dry period. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 10, p. 9350-9359, 2018.
- RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.
- REINHARDT, T. A.; LIPPOLIS, J. D.; MCCLUSKEY, B. J.; GOFF, J. P.; HORST, R. L. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The Veterinary Journal**, v. 188, n. 1, p. 122-124, 2011.
- ROCHE, J. R.; BERRY, D. P. Periparturient climatic, animal, and management factors influencing the incidence of milk fever in grazing systems. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 7, p. 2775-2783, 2006.
- ROCHE, J. R.; FRIGGENS, N. C.; KAY, J. K.; FISHER, M. W.; STAFFORD, K. J.; BERRY, D. P. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 12, p. 5769-5801, 2009.
- RODRIGUES, R.; COOKE, R. F.; FERREIRA, H. A. O.; FLORIDO, R. R.; CAMARGO, V.; GODOY, H. O.; BRUNI, G. A.; VASCONCELOS, J. L. M. Impacts of subclinical hypocalcemia on physiological, metabolic, and productive responses of Holstein× Gir dairy cows. **Translational Animal Science**, v. 4, n. 2, p. 1060-1069, 2020.
- RODRÍGUEZ, E. M.; ARÍS, A.; BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 9, p. 7427-7434, 2017.
- RUSSELL, K. E.; ROUSSEL, A. J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 403-426, 2007.
- SABORÍO-MONTERO, A.; VARGAS-LEITÓN, B.; ROMERO-ZÚÑIGA, J. J.; SÁNCHEZ, J. M. Risk factors associated with milk fever occurrence in grazing dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 12, p. 9715-9722, 2017.



SHARKEY, L.C.; OVERMANN, J. A. Alterations in the Erythron. In: SMITH, B. P. (5. ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015a. p. 376-380.

SHARKEY, L.C.; OVERMANN, J. A. Alterations in the Leukogram. In: SMITH, B. P. (5. ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015b. p. 381-385.

SORDILLO, L. M.; RAPHAEL, W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 267-278, 2013.

STÄMPFLI, H.; OLIVER-ESPINOSA, O. Clinical Chemistry Tests. In: SMITH, B. P. (5. ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 350-373.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Cálcio, fósforo, magnésio e seus hormônios reguladores. In: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. (2. Ed.) **Fundamentos de patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 496-532.

TORNQUIST, S. J.; RIGAS, J. Interpretation of Ruminant Leukocyte Responses. In: WEISS, D.; WARDROP, K. J. (6. Ed.) **Schalm's Veterinary Hematology**. Ames: Willey-Blackwell, 2010. p. 307-313.

TRAJANO, H. P. **Parâmetros clínicos e laboratoriais de vacas leiteiras no período de transição manejadas em free stall**. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013. Disponível em: <<https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/5140/1/texto%20completo.pdf>>. Acesso em: 12 fevereiro 2021.

WEISER, G. Interpretation of Leukocyte Responses in Disease. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012. p. 127-139.

WILDMAN, E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E.; BOMAN, R. L.; TROUTT JR., H. F.; LESCH, T. N. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of dairy science**, v. 65, n. 3, p. 495-501, 1982.

WU, J.; LIU, J.; WANG, D. Effects of body condition on the insulin resistance, lipid metabolism and oxidative stress of lactating dairy cows. **Lipids in health and disease**, v. 19, p. 1-7, 2020.

## **5 CAPÍTULO 2 - METRITE DE OCORRÊNCIA NATURAL EM VACAS LEITEIRAS: ASPECTOS CLÍNICOS, DOENÇAS ASSOCIADAS E ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS E BIOQUÍMICAS**

### **RESUMO**

A utilização de exames sanguíneos auxilia no monitoramento e na compreensão das doenças que ocorrem durante o período de transição. O objetivo deste trabalho foi avaliar as alterações sanguíneas, as características clínicas e as doenças concomitantes, além de comparar com as alterações nas vacas leiteiras com metrite e vacas com metrite e cetose associada. A presença de metrite foi constatada em 26 vacas, através do volume do útero aumentado e corrimento vaginal alterado. As metrites foram classificadas em metrite leve (n=4), moderada (n=17) e grave (n=5). Foram avaliadas afecções concomitantes como mastite, cetose e deslocamento de abomaso e, na ausência de doenças, a vaca foi considerada sadia, pertencendo ao grupo controle (n=20). As vacas com metrite foram divididas em dois grupos, com e sem cetose associada. O sangue foi coletado de vacas no primeiro mês pós-parto para mensuração da concentração sanguínea de glicose, beta-hidroxibutirato, cálcio total, fósforo, magnésio, colesterol, triglicerídeos, ureia, creatinina, proteínas totais, albumina, globulinas, fibrinogênio, e para determinação das atividades séricas da AST, FA, GGT e CK, além da realização do hemograma. As amostras foram analisadas no Laboratório Clínico Veterinário-UFPR Setor Palotina. Foram avaliados o número de dias após o parto, número de partos, raça, escore de condição corporal (1-5) e o histórico clínico de ocorrência de distocia e retenção de placenta. A comparação entre grupos metrite e controle, e a comparação entre grupo metrite com e sem associada, foi através de Teste t não pareado e teste de Mann Whitney ( $p < 0,05$ ). Vacas com metrite tiveram seus resultados também comparados à intervalos de referência. Além disso, foram avaliadas correlações entre as variáveis através do coeficiente de Pearson e correlação de Spearman. A metrite afeta vacas nas primeiras três semanas após o parto e ocorreu principalmente na segunda semana. Vacas com metrite tiveram alterações sugestivas do quadro inflamatório, como neutropenia, desvio à esquerda, e hiperglobulinemia, houve também redução nas concentrações de albumina e colesterol, e aumento de fibrinogênio, também indicando o quadro inflamatório nestas vacas. Os quadros menos graves de metrite são mais associadas ao histórico de distocia e se manifestam com maior número de dias após o parto, levando principalmente à neutrofilia e hiperglobulinemia. Já quadros mais graves tendem a ser associados principalmente à retenção de placenta, manifestando-se mais próximos ao parto e levando principalmente à neutropenia e desvio à esquerda. Vacas com metrite apresentaram redução das concentrações de cálcio, fósforo e magnésio. A associação de cetose e metrite foi comum (50%), principalmente em vacas da raça Jersey e com ECC mais alto, levando ao aumento das concentrações de beta-hidroxibutirato e redução nas de glicose e fósforo. Ocorreu também aumento do hematócrito, da concentração de hemoglobina e de creatinina, que sugerem desidratação e, houve aumento de atividade sérica da AST e CK, o que sugere lesão hepática e catabolismo muscular, respectivamente. A mastite foi associada à metrite em 34,5% das vacas. Desta forma, a metrite causou principalmente alterações sugestivas do quadro inflamatório e déficit mineral, e foi associada principalmente a cetose e mastite.

Palavras chave: Doença Infecciosa; Inflamação; Imunossupressão; Neutropenia; Cetose.

## **SPONTANEOUS METRITIS IN DAIRY COWS: CLINICAL ASPECTS, ASSOCIATED DISEASES AND HEMATOLOGICAL AND BIOCHEMICAL CHANGES**

### **ABSTRACT**

The use of blood tests helps to monitor and understand diseases that occur during the transition period. The aim of this study was to evaluate blood changes, clinical aspects and concomitant diseases, in addition to compare them with changes in dairy cows with metritis and cows with metritis and associated ketosis. The presence of metritis was found in 26 cows, through increased uterine volume and altered vaginal discharge. Metritis was classified as mild (n=4), moderate (n=17) and severe (n=5). Concomitant conditions such as mastitis, ketosis and displacement of the abomasum were evaluated and, in the absence of disease, the cow was considered healthy, belonging to the control group (n=20). Cows with metritis were divided in two groups, with and without associated ketosis. Blood was collected from cows in the first postpartum month to measure blood glucose, beta-hydroxybutyrate, total calcium, phosphorus, magnesium, cholesterol, triglycerides, urea, creatinine, total proteins, albumin, globulins, fibrinogen, and for determination of the serum activities of AST, FA, GGT and CK, and to perform the blood count. The samples were analyzed at the Veterinary Clinical Laboratory - UFPR Setor Palotina. The number of postpartum days, number of deliveries, breed, body condition score (1-5) and clinical history of dystocia and retained placenta occurrence were evaluated. The comparison between metritis and control groups, and the comparison between metritis group with and without associated ketosis, was through unpaired T-test and Mann Whitney test ( $p < 0.05$ ). Metritic cows also had their results compared to reference intervals. In addition, correlations between variables were assessed using Pearson's coefficient and Spearman's correlation. Metritis affects cows in the first three weeks after calving and occurred mainly in the second week. Cows with metritis had alterations suggestive of the inflammatory condition, such as neutropenia, left shift, and hyperglobulinemia, there was also a reduction in the concentrations of albumin and cholesterol, and an increase in fibrinogen, also indicating the inflammatory condition in these cows. Less severe metritis is more associated with a history of dystocia and manifests itself with a greater number of days after delivery, leading mainly to neutrophilia and hyperglobulinemia. More severe conditions tend to be associated mainly with retained placenta, manifesting closer to delivery and leading mainly to neutropenia and left shift. Metritic cows showed a reduction in calcium, phosphorus and magnesium concentrations. The association of ketosis and metritis was common (50%), mainly in Jersey cows and with higher ECC, leading to an increase in beta-hydroxybutyrate concentrations and a reduction in glucose and phosphorus. There was also an increase in hematocrit, hemoglobin and creatinine concentration, which suggest dehydration and, there was an increase in serum activity of AST and CK, which suggests liver damage and muscle catabolism, respectively. Mastitis was associated with metritis in 34.5% of cows. Thus, metritis mainly caused changes suggestive of the inflammatory condition and mineral deficit, and was mainly associated with ketosis and mastitis.

**Key words:** Infectious disease; Inflammation; Immunosuppression; Neutropenia; Ketosis.

## 5.1 INTRODUÇÃO

A metrite é a inflamação de todas as camadas da parede uterina, sendo que, geralmente têm origem infecciosa, causadas principalmente por bactérias (FOSTER, 2013). O termo metrite é usado muitas vezes de forma geral para as infecções uterinas do pós-parto, com ou sem manifestações sistêmicas (HILLMAN e GILBERT, 2008).

Para Sheldon et al. (2006, 2008) pode-se classificar como metrite puerperal os casos de infecção uterina que acontecem durante o período de até 21 dias após o parto, no qual o útero está anormalmente aumentado, com corrimento fétido e aquoso, de coloração vermelha e/ou acastanhada, e associado a manifestações sistêmicas, como febre, apatia, anorexia, menor produção de leite e desidratação. Ainda neste período, casos de infecção uterina sem manifestações sistêmicas, mas com útero aumentado e secreção uterina purulenta, são denominados apenas como metrite.

O parto é um momento crítico, com risco de lesões traumáticas, de falha na expulsão da placenta e de desenvolvimento de infecção uterina (SHELDON et al., 2008). A maioria das vacas tem contaminação do útero por bactérias após o parto, que é eliminada progressivamente pelos mecanismos de defesa uterinos e nem sempre leva à doença (SHELDON et al., 2008). O aumento da susceptibilidade do útero à infecção ocorre pelo maior balanço energético negativo (HAMMON et al., 2006) e pela hipocalcemia (MARTINEZ et al., 2012). Além disso, retenção de placenta, distocias, lesões durante o parto e a atonia uterina secundária à hipocalcemia são fatores predisponentes para a metrite (HILLMAN e GILBERT, 2008).

A metrite acomete cerca de 20% das vacas leiteiras (GALVÃO et al., 2011; GALVÃO, 2012b), mas nas duas semanas após o parto até 45% das vacas podem apresentar infecção uterina (SHELDON et al., 2008). Sua ocorrência tem impacto produtivo e reprodutivo, com perdas na produção de leite, custos com assistência veterinária, medicamentos, descarte de leite, redução de fertilidade e descarte de vacas, entre outros (OVERTON e FETROW, 2008; MAHNANI et al., 2015).

A avaliação de parâmetros sanguíneos traz informações para monitoramento de doenças no período de transição e para melhor compreensão das alterações metabólicas e imunológicas (LEBLANC, 2010). Entretanto, os trabalhos que avaliam exames como hemograma e bioquímicos sanguíneos de vacas com metrite são escassos.

Em vista disso, o objetivo deste estudo foi avaliar as alterações hematológicas e bioquímicas presentes na metrite, de ocorrência natural, e correlacionar com as

características clínicas e as doenças concomitantes. Além de comparar os parâmetros hematológicos, bioquímicos e aspectos clínicos de vacas com cetose associada à metrite e sem cetose associada.

## 5.2 MATERIAL E MÉTODOS

O presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor Palotina da UFPR, protocolo nº 15/2019.

Foram avaliadas 46 vacas leiteiras, no período de até 30 dias após o parto, atendidas pela Veterinária Hümmeblau, no município de Maripá-PR. As vacas variavam de raça, sendo Holandesa Preto e Branco, Jersey e seus Cruzamentos; oriundas de propriedades leiteiras da região Oeste do Paraná, com no máximo 50 vacas em lactação e produção de leite média de 20 a 30L/vaca/dia; criadas em regime semi-intensivo e intensivo, como *Free-stall* ou *Compost barn*.

Dentre as vacas avaliadas vinte e seis apresentaram quadro de metrite (n=26), em até 21 dias após o parto, caracterizada pela presença de corrimento uterino alterado e útero aumentado de volume, avaliado através de palpação vaginal e palpação transretal, respectivamente, todas as vezes pelo mesmo avaliador. A metrite foi classificada em três graus de gravidade, leve (n=4), moderada (n=17) e grave (n=5). Esta classificação foi baseada nas definições de metrite clínica e puerperal (SHELDON et al., 2006; SHELDON et al., 2008), com adaptações.

As vacas com gravidade de metrite leve e moderada eram normotérmicas, para a gravidade ser considerada moderada, havia útero com maior tamanho, corrimento fétido e abundante, de consistência mais aquosa e de coloração avermelhada a marrom. Já para gravidade leve, o útero tinha tamanho aumentado, mas de maneira menos intensa, se comparado ao grupo moderado, e com corrimento em quantidade moderada, de aspecto purulento, coloração de avermelhado a esbranquiçado. Vacas que apresentaram febre, com temperatura retal maior que 39,5°, associado ao corrimento e útero alterados conforme descrito para gravidade moderada, foram classificadas como metrite grave.

Foram coletados dados como número de partos/lactações e tempo após o parto. Foi avaliado o escore de condição corporal (ECC), classificando os animais de

um a cinco, sendo considerado um para vacas extremamente magras e cinco para extremamente obesas (WILDMAN et al., 1982; ROCHE et al., 2009).

A presença de doenças concomitantes foram definidas como distocia, quando o parto necessitou de intervenção humana; mastite clínica, quando presente alteração macroscópica do leite em cor, redução de viscosidade, grumos, coágulos, podendo estar acompanhada de alterações sistêmicas e da glândula mamária; mastite subclínica, quando ocorreu aumento da viscosidade e/ou mudança de cor no *California Mastitis Test*, sem alterações descritas para a mastite clínica; retenção de placenta, caso houvesse retenção dos anexos embrionários por mais de 12 horas após o parto; deslocamento de abomaso à esquerda, quando houve presença de “ping metálico” durante a percussão auscultatória, na área dorsal do lado esquerdo do animal, entre o nono e décimo segundo espaços intercostais; cetose, para vacas com aumento da concentração de corpos cetônicos, sendo BHB acima de 1,4 mmol/L. As vacas do grupo metrite (n=26) foram subdivididas em dois grupos, um grupo que apresentava cetose associada à metrite (n=13), e o outro sem cetose associada à metrite (n=13), os quais foram comparados estatisticamente.

Para comparação dos dados em relação ao grupo metrite, foi estabelecido grupo controle (n=20). Para formação deste grupo, no momento em que o médico veterinário ia para o atendimento das vacas doentes, se existissem outras vacas da mesma propriedade no período pós-parto de até 30 dias, era realizada a avaliação destas vacas e, se consideradas saudáveis após exame clínico, fizeram parte do grupo controle. Os parâmetros avaliados nestas vacas foram os mesmos que para as vacas com metrite.

O sangue venoso foi coletado através da punção da veia coccígea, sendo acondicionado 2ml em tubo com EDTA e 8ml em tubo seco. Algumas gotas de sangue foram utilizadas para avaliação da concentração sanguínea de glicose e de beta-hidroxibutirato, através da técnica de bioquímica seca, com tiras teste para cada um dos metabólitos mensurados, utilizando aparelho *FreeStyle Optimun Neo, Abbott®*.

As amostras de sangue foram analisadas no Laboratório Clínico Veterinário do Hospital Veterinário da UFPR, Setor Palotina. Para a realização do hemograma, as contagens de hemácias, leucócitos e plaquetas, e a determinação da concentração de hemoglobina foram obtidas através contador automático de células, marca

*Mindray*®, modelo BC-2800VET. O hematócrito foi mensurado por meio de centrifugação de capilar a 11.000rpm/5min. A contagem diferencial de leucócitos e avaliação morfológica das células foi realizada em esfregaços sanguíneos corados com kit panótico® e visualizados por microscopia óptica em aumento de 1000x.

Para determinação da concentração de fibrinogênio, foi utilizado o método de desnaturação. Dois capilares foram preenchidos com sangue, um passou por banho-maria à 57°C/3min, em seguida, ambos foram centrifugados a 11.000rpm/5min e a concentração de proteína foi mensurada no plasma por refratometria. A diferença entre os resultados da concentração de proteína entre os capilares, multiplicada por 1000, fornece a concentração de fibrinogênio em mg/dL.

Os exames bioquímicos foram realizados pelo método de espectrofotometria, as amostras do tubo seco foram centrifugados a 3.000rpm/5min e o sobrenadante utilizado para mensurações em analisador bioquímico automático, marca *Mindray*®, modelo BS120. Foi realizada a mensuração das atividades séricas de aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), gama-glutamil transferase (GGT), creatina quinase (CK), e mensuração das concentrações de cálcio total, fósforo, magnésio, colesterol, triglicerídeos, ureia, creatinina, proteínas totais e albumina. A concentração de globulinas foi obtida pela diferença entre a concentração de albumina e a concentração de proteínas totais.

Os resultados dos animais com metrite foram comparados com intervalos de referência adequados para espécie, sexo e fase lactacional dos animais (Quadro 1).

Os resultados do grupo controle e do grupo metrite, passaram por teste de normalidade Shapiro-Wilk. Para comparação entre os grupos, foi utilizado o Teste t não pareado para variáveis paramétricas e, para as variáveis não paramétricas, o teste de Mann Whitney. A comparação entre o grupo metrite com cetose associada e o grupo metrite sem cetose associada, foi realizada de maneira semelhante ao descrito anteriormente.

Com os resultados obtidos das vacas com metrite, foram avaliadas as correlações entre as variáveis. Para correlações paramétricas foi utilizado coeficiente de Pearson ( $r$ ), e para correlações com dados não paramétricos a correlação de Spearman ( $r_s$ ). Para variáveis qualitativas foram atribuídos números, permitindo a avaliação da correlação, sendo a presença de doença associada considerada (1) e

ausência desta doença (0); raça Holandesa (1), Cruzamentos Jersolando (2) e Jersey (3). Gravidade da metrite leve (1), moderada (2) e grave (3); gravidade da mastite, considerando mastite subclínica (1), mastite clínica com alterações apenas no leite (2), mastite clínica com alterações no leite e glândula mamária (3) e para mastite clínica com manifestações sistêmicas (4). Para todas as análises o nível de significância considerado foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

QUADRO 1: PARÂMETROS HEMATOLÓGICOS E BIOQUÍMICOS UTILIZADOS NO TRABALHO.

Parâmetros	Intervalo de referência (unidade)	Fonte
Eritrócitos	5,1 - 7,6 clls $\times 10^6/\mu\text{L}$	GEORGE et al., 2010; SHARKEY e OVERMANN, 2015a
Hemoglobina	8,5 - 12,2 g/dL	
Hematócrito	22 - 33%	
VCM	38 - 50 fL	
CHCM	36 - 39 g/dL	
Plaquetas	193.000 - 637.000 $/\mu\text{L}$	GEORGE et al., 2010
Leucócitos	4.900 - 12.000 clls $/\mu\text{L}$	GEORGE et al., 2010; SHARKEY e OVERMANN, 2015b
Neutrófilos Bastonetes	Raro	
Neutrófilos Segmentados	1.800 - 6.300 clls $/\mu\text{L}$	
Linfócitos	1.600 - 5.600 clls $/\mu\text{L}$	
Monócitos	0 - 800 clls $/\mu\text{L}$	
Eosinófilos	0 - 900 clls $/\mu\text{L}$	JOHNS, 2015
Fibrinogênio	200 - 700 mg/dL	
Proteínas Totais	6,74 - 7,46 g/dL	KANEKO et al., 2008
Albumina	3 - 3,55 g/dL	
Globulinas	3 - 3,48 g/dL	
AST	78 - 132 UI/L	
FA	0 - 488 UI/L	
Creatinina	1,0 - 2,0 mg/dL	
Ureia	20 - 30 mg/dL	
Glicose	45 - 75 mg/dL	
Colesterol	80 - 120 mg/dL	
Triglicerídeos	0 - 14 mg/dL	
Fósforo	5,6 - 6,5 mg/dL	
Magnésio	1,8 - 2,3 mg/dL	
GGT	15 - 39 UI/L	STÄMPFLI e OLIVER-ESPINOSA, 2015
CK	44 - 211 UI/L	
Cálcio total	> 8 mg/dL	GOFF, 2008; GOFF, 2015
	> 8,6 mg/dL	MARTINEZ et al., 2012
BHB	< 1,4 mmol/L	OETZEL, 2007; OETZEL, 2004

Fonte: O autor (2021).

LEGENDA: BHB: Beta-hidroxibutirato; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; AST: Aspartato Aminotransferase; FA: Fosfatase Alcalina; GGT: Gama-glutamil Transferase; CK: Creatina Quinase.

### 5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A ocorrência da metrite foi detectada na primeira semana após o parto em 35% dos casos, na segunda em 46% e na terceira em 19% dos casos. Todas as ocorrências ficaram compreendidas de 2 a 20 dias, com mediana de 8,5 dias (Tabela



1). Esta afecção ocorre no início do puerpério, sendo que a metrite puerperal, com manifestações de toxemia, acontece geralmente nos primeiros 10 dias após o parto (HILLMAN e GILBERT, 2008), principalmente na primeira semana, com maior ocorrência de 2 a 4 dias após o parto (GONZÁLEZ et al., 2014). Já Bruun et al. (2002) encontraram maior número de casos de metrite entre dois e 14 dias, ou seja nas duas primeiras semanas após o parto, assemelhando-se aos valores achados neste estudo.

TABELA 1: DISTRIBUIÇÃO DOS DADOS DE RAÇA, NÚMERO DE PARTOS, ECC E DIAS APÓS O PARTO (MEDIANA E AMPLITUDE) DE VACAS DO GRUPO METRITE E GRUPO CONTROLE.

<b>Parâmetros avaliados</b>	<b>Metrite (n=26)</b>	<b>Controle (n=20)</b>	<b>Valor “p”</b>
Número de dias após o parto	8,5 (2-20)	11 (0-30)	0,69
Número de partos	3 (1-8)	2 (1-6)	0,48
Raça	1 (1-3)	1 (1-3)	0,98
ECC	3 (2,5-5)	3 (2,5-4,5)	0,35

FONTE: O autor (2021).

NOTA: \* Diferença significativa entre grupos ( $p < 0,05$ ).

LEGENDA: ECC: Escore de Condição Corporal.

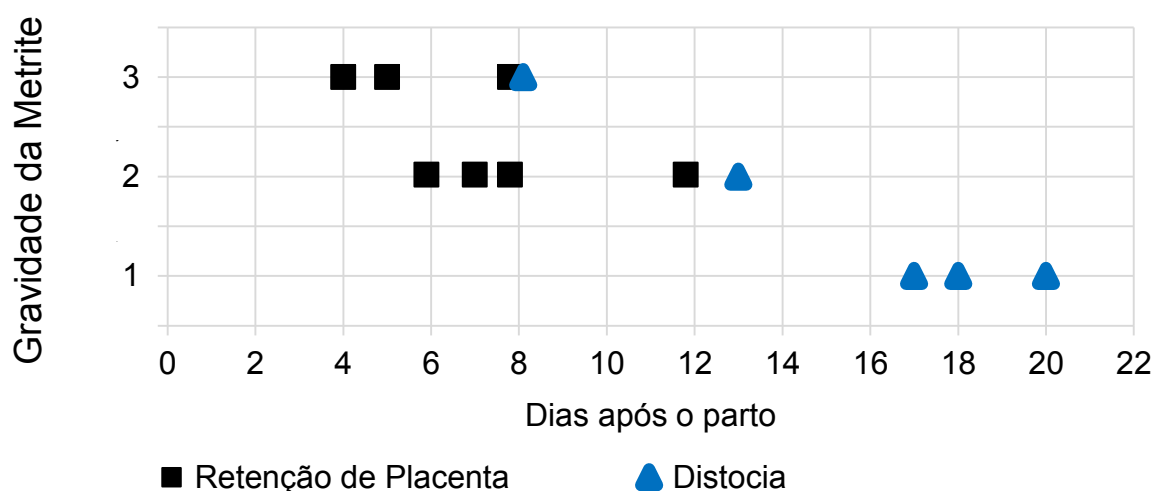
No histórico das vacas do grupo metrite 31% tiveram retenção de placenta, 19% distocia, 27% distocia e retenção de placenta e 23% não apresentaram nenhum destes eventos. Esses dados indicam que a ocorrência de retenção de placenta e de distocia são fatores predisponentes e aumentam o risco de desenvolvimento de infecção uterina, como relatado por outros autores (KANEENE e MILLER, 1994; HUZZEY et al., 2007; HILLMAN e GILBERT, 2008; HOSSEIN-ZADEH e ARDALAN, 2011; GONZÁLEZ et al., 2014; PÉREZ-BÁEZ et al., 2019). A distocia é fator de risco para desenvolvimento da retenção de placenta (HOSSEIN-ZADEH e ARDALAN, 2011, DAROS et al., 2017) e a principal complicação da retenção de placenta é a metrite (HILLMAN e GILBERT, 2008). Além disso, a distocia predispõe a lesões no canal do parto e de contaminação bacteriana pela manipulação obstétrica (HOSSEIN-ZADEH e ARDALAN, 2011) e a placenta retida é importante fonte de infecção e de putrefação proteica no útero (SHELDON et al., 2004).

Observou-se que 23% das vacas apresentaram metrite sem distocia e/ou retenção de placenta associados. Provavelmente isso se deve ao fato de que quase todas as vacas têm constante contaminação do útero por bactérias nas primeiras duas semanas após o parto (SHELDON et al., 2008). A imunidade uterina normal é capaz de eliminar a contaminação bacteriana (LEBLANC, 2008), mas a falha nos mecanismos de defesa uterinos leva à metrite (GALVÃO, 2012a). A redução da

capacidade imunológica que predispõe à metrite pode ocorrer pela hipocalcemia (MARTINEZ et al., 2012) e pelo maior balanço energético negativo (HAMMON et al., 2006; GIULIODORI et al., 2013), condições presentes nas vacas deste estudo.

Houve correlação negativa entre os dias após o parto e a gravidade da metrite ( $r_s = -0,53$ ;  $p = 0,005$ ), ou seja, metrites que aconteceram mais próximas ao parto tenderam a ser mais graves. A ocorrência de distocia teve correlação com o maior número de dias para manifestação da metrite ( $r_s = 0,40$ ;  $p = 0,044$ ). O histórico de retenção de placenta teve correlação com o menor número de dias pós-parto para manifestação da metrite ( $r_s = -0,46$ ;  $p = 0,04$ ), porém somente quando as vacas com retenção de placenta e distocia associados foram removidas da análise. Se incluídas na análise, não houve correlação significativa ( $r_s = -0,32$ ;  $p = 0,11$ ), possivelmente pela interferência da associação destes dois fatores predisponentes (Gráfico 1).

GRÁFICO 1: NÚMERO DE DIAS APÓS O PARTO E A GRAVIDADE DAS METRITES APRESENTADAS POR VACAS COM HISTÓRICO DE RETENÇÃO DE PLACENTA OU DE DISTOCIA.



FONTE: O autor (2021).

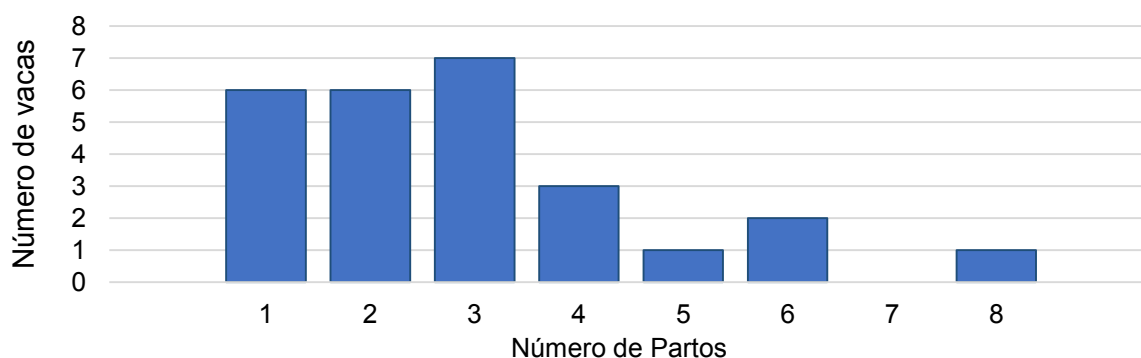
As correlações encontradas entre a gravidade da metrite e fatores predisponentes podem indicar que quando associada à retenção de placenta, a metrite acontece mais precocemente e de maneira mais grave, já a metrite que ocorre por lesões e contaminação uterina em consequência da distocia, pode manifestar-se mais tardiamente e de forma menos grave. Para Huzzey et al., (2007) nas metrites graves 58% das vacas tiveram retenção de placenta, já nas vacas com metrite moderada apenas 7% tiveram retenção de placenta, o que também sugere a relação entre retenção de placenta e maior gravidade da metrite. Além disso, vacas podem

desenvolver retenção de placenta pelo comprometimento da função dos neutrófilos, sugerindo que a imunossupressão é uma das causas da retenção de placenta (KIMURA et al., 2002), assim, as vacas com imunossupressão podem desenvolver metrite de maneira mais grave, entretanto, esta relação precisa ser melhor estabelecida, uma vez que pode ser influenciada por diversos fatores.

Quanto ao número de partos, tanto vacas primíparas quanto múltiparas foram acometidas por metrite. A maior frequência foi no terceiro parto (27%), e não houve predominância significativa em relação ao número de partos (Tabela 1 e Gráfico 2). Alguns autores relatam que primíparas têm maior risco de desenvolver metrite, provavelmente pela maior ocorrência de distocia, com mais lesões traumáticas e contaminação uterina por bactérias (HOSSEIN-ZADEH e ARDALAN, 2011; GIULIODORI et al., 2013). Entretanto, também foi sugerido que o risco de desenvolvimento da metrite aumenta conforme o maior número de partos (KANEENE e MILLER, 1994). Isto pode estar relacionado com a retenção de placenta, pois vacas múltiparas têm maior risco de retenção de placenta, que é fator de risco para a metrite (HOSSEIN-ZADEH e ARDALAN, 2011, DAROS et al., 2017).

Foi relatado que a maior frequência de retenção de placenta em vacas mais velhas é devido ao sistema imune menos efetivo (NOBRE et al., 2018), e que a imunossupressão pode ocorrer de forma mais exacerbada em vacas com maior número de partos (GILBERT et al., 1993). Além disso, a hipocalcemia, fator predisponente para a retenção de placenta, é mais comum em vacas múltiparas (REINHARDT et al., 2011).

GRÁFICO 2: NÚMERO DE PARTOS DAS VACAS COM METRITE.



FONTE: O autor (2021).

Lesões traumáticas e a força excessiva para separação da placenta podem levar a sangramentos, principalmente em partos distócicos (NOAKES et al., 2001). Nos resultados obtidos, houve correlações significativas entre a ocorrência de distocia com redução do número de eritrócitos ( $r_s = -0,55$ ;  $p = 0,004$ ), do hematócrito ( $r_s = -0,44$ ;  $p = 0,026$ ), das concentrações de hemoglobina ( $r_s = -0,52$ ;  $p = 0,007$ ) e de albumina ( $r_s = -0,40$ ;  $p = 0,041$ ). Cinco vacas apresentaram anemia de intensidade leve (Gráfico 3), sendo que, em três destas o parto foi distócico. Das cinco vacas anêmicas, três apresentaram VCM aumentado, duas VCM normal e todas apresentaram redução do CHCM. Os índices do eritrograma são utilizados para avaliar as anemias, sendo a perda de sangue aguda uma das possíveis causas, que geralmente se apresenta com VCM alto e CHCM baixo, associado à redução das proteínas plasmáticas (JONES e ALLISON, 2007) o que condiz com os resultados encontrados.

TABELA 2: VALORES (MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO) VERIFICADOS NO HEMOGRAMA DE VACAS DO GRUPO METRITE E GRUPO CONTROLE.

Parâmetros avaliados (unidades)	Metrite (n=26)	Controle (n=20)	Valor "p"
Eritrócitos (c/lis $\times 10^6/\mu\text{L}$ )	6,48 $\pm$ 1,2	6,29 $\pm$ 0,75	0,53
Hemoglobina (g/dL)	10,8 $\pm$ 2	10,14 $\pm$ 0,97	0,16
Hematócrito (%)	32,3 $\pm$ 6,1	29,9 $\pm$ 3,43	0,10
VCM (fL)	50,1 $\pm$ 4,7	47,9 $\pm$ 5,77	0,17
CHCM (g/dL)	33,5 $\pm$ 1,5	34,02 $\pm$ 1,44	0,24
Leucócitos Totais (c/lis/ $\mu\text{L}$ )	11512 $\pm$ 7948	11676 $\pm$ 4189	0,38
Neutrófilos Metamielócitos (c/lis/ $\mu\text{L}$ )	189 $\pm$ 605	0 $\pm$ 0	0,22
Neutrófilos Bastonetes (c/lis/ $\mu\text{L}$ )	810 $\pm$ 2258*	0 $\pm$ 0	0,002
Neutrófilos Segmentados (c/lis/ $\mu\text{L}$ )	3298 $\pm$ 3132	3698 $\pm$ 1836	0,10
Eosinófilos (c/lis/ $\mu\text{L}$ )	277 $\pm$ 397*	578 $\pm$ 497	0,014
Linfócitos (c/lis/ $\mu\text{L}$ )	6365 $\pm$ 5781	6909 $\pm$ 3380	0,23
Monócitos (c/lis/ $\mu\text{L}$ )	573 $\pm$ 372	443 $\pm$ 337	0,19
Plaquetas (c/lis/ $\mu\text{L}$ )	475120 $\pm$ 196685	393778 $\pm$ 88503	0,36

FONTE: O autor (2021).

NOTA: \* Diferença significativa entre grupos ( $p < 0,05$ ).

LEGENDA: VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média.

Comparadas ao grupo controle, as vacas com metrite tiveram redução nos valores de cálcio, fósforo e magnésio (Tabela 3). Embora tenha havido diferença estatística para a concentração sérica de magnésio, apenas 7,5% das vacas com metrite estavam abaixo do intervalo de referência (Gráfico 3). As concentrações sanguíneas destes três minerais são reguladas por mecanismos homeostáticos, porém, estes minerais estão presentes em grandes quantidades no leite e no colostro, e o aumento da demanda pode levar à redução da concentração plasmática. Desta forma, para manter níveis sanguíneos adequados, a vaca depende da absorção da dieta e, para o cálcio e fósforo depende, também, da reabsorção óssea (GOFF, 2006).

O aumento da demanda de nutrientes para a produção de leite, ocorre justamente no período em que o consumo de matéria seca e a ingestão de nutrientes estão reduzidos (DRACKLEY, 1999) e, assim, o menor consumo de matéria seca pode ser a causa dos resultados encontrados e, ainda, outros trabalhos mostram que a redução do consumo de matéria seca é mais intensa em vacas que desenvolveram metrite (HAMMON et al., 2006; HUZZEY et al., 2007; PÉREZ-BÁEZ et al., 2019).

Diversos autores consideram 8mg/dL como limiar mínimo de cálcio sérico total, e assim, vacas com concentrações de cálcio abaixo deste limiar têm hipocalcemia (MULLIGAN et al., 2006; GOFF, 2008; REINHARDT et al., 2011; GOFF, 2015; VENJAKOB et al., 2017). Todavia, Martinez et al. (2012) relataram que vacas com concentrações de cálcio abaixo de 8,6 mg/dL apresentaram maior risco de desenvolvimento de metrite, além de que, as vacas que mantiveram as concentrações abaixo deste limiar durante os três primeiros dias após o parto, tiveram redução no número e função dos neutrófilos, ou seja, houve imunossupressão que aumentou a chance de desenvolvimento de metrite. Para Neves et al. (2018) os valores de cálcio abaixo de 8,6mg/dl também estão associados ao maior risco de metrite. A hipocalcemia, além de comprometer a função imunológica, também diminui o tônus muscular uterino, aumentando o risco de metrite (GOFF e HORST, 1997). No presente estudo, 61,5% das vacas com metrite apresentaram hipocalcemia, quando considerado o parâmetro de referência mínimo de 8,6 mg/dL, e considerando o mínimo de 8mg/dL, apenas 27% dos animais apresentaram hipocalcemia, desta forma, nossos resultados encontram-se mais próximos dos relatados por Martinez et al. (2012) e por Neves et al. (2018).

O aumento da atividade sérica de FA teve correlação com maiores concentrações de cálcio ( $r_s = 0,49$ ;  $p = 0,01$ ) e fósforo ( $r_s = 0,42$ ;  $p = 0,032$ ), o que pode ter relação com o metabolismo ósseo. Já que os ossos possuem isoenzima FA, que pode ter aumento de sua atividade em casos de reabsorção óssea ativa (BAIN, 2011).

A atividade de GGT foi mais alta na metrite quando comparada ao grupo controle (Tabela 3), embora apenas cinco vacas estivessem acima do intervalo de referência (Gráfico 3), todas com alguma doença associada, duas com cetose, uma cetose e mastite, e duas com mastite. Esta enzima também é considerada indicador de doença hepática, aumentando sua atividade em casos de colestase em ruminantes, mas eleva-se em doenças hepatobiliares no geral (RUSSELL e ROUSSEL, 2007), inclusive na lipidose hepática (STÄMPFLI e OLIVER-ESPINOSA,

2015). Desta forma, o aumento de atividade de GGT nas vacas com cetose pode ser pela presença de lipidose hepática concomitante. A glândula mamária de bovinos produz grandes quantidades de GGT, todavia, não é esperado o aumento de atividade sérica de GGT por esta isoenzima (ALLISON, 2012c). Assim, estes resultados necessitam de estudos complementares já que outras condições podem estar associadas ao aumento da atividade sérica de GGT.

A concentração sanguínea de colesterol foi menor no grupo metrite (Tabela 3), havendo 81% de vacas com hipocolesterolemia (Gráfico 3), além de haver correlação entre menores concentrações de albumina e menores concentrações de colesterol ( $r=0,41$ ;  $p=0,035$ ). Isto pode indicar menor síntese hepática, pois tanto a albumina quanto o colesterol são sintetizados pelo fígado (ALLISON, 2012c). Vacas com lipidose hepática podem ter o colesterol reduzido (PEEK e DIVERS, 2008) e a lipidose hepática pode estar associada à cetose. Todavia, as vacas do grupo metrite associada à cetose, não apresentaram diferenças nas concentrações de colesterol.

Logo após o parto, de maneira fisiológica, o colesterol atinge as concentrações mais baixas no ciclo de lactação, que aumentam gradativamente (KESSLER et al., 2014) e no presente estudo houve correlação positiva entre o número de dias após o parto e a concentração de colesterol ( $r=0,40$ ;  $p=0,039$ ), mostrando esta relação de aumento.

A metrite já foi correlacionada com a redução nas concentrações de colesterol (SEPÚLVEDA-VARAS et al., 2015), pois durante a resposta hepática na inflamação aguda, as lipoproteínas podem ter sua síntese diminuída (BERTONI e TREVISI, 2013) sendo o colesterol parte da composição das lipoproteínas (BRUSS, 2008). A redução da concentração de colesterol e a menor função hepática, já foi relatada em vacas com resposta inflamatória mais intensa por Bionaz et al. (2007). Outro fato que corrobora a relação da hipocolesterolemia e quadro inflamatório foi a correlação negativa entre número de bastonetes e as concentrações de colesterol ( $r_s=-0,43$ ;  $p=0,027$ ).

No proteinograma das vacas com metrite houve aumento do fibrinogênio, proteína de fase aguda (PFA) positiva, e redução da albumina, PFA negativa (Tabela 3). Nos casos de inflamação o fibrinogênio tem aumento de suas concentrações sanguíneas e a albumina tem redução (ECKERSALL, 2008). A hiperfibrinogenemia estava presente em 58% das vacas (Gráfico 2), e essa condição é um grande

indicador de inflamação em bovinos, que pode aumentar na ausência de alterações do leucograma e preceder quadros de neutrofilia (WEBB e LATIMER, 2011).

TABELA 3: VALORES DOS EXAMES BIOQUÍMICOS QUANTITATIVOS (MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO) E QUALITATIVOS (MEDIANA E AMPLITUDE) DE VACAS DO GRUPO METRITE E GRUPO CONTROLE.

Parâmetros avaliados (unidades)	Metrite (n=26)	Controle (n=20)	Valor "p"
BHB (mmol/L)	2,66 $\pm$ 2,53	0,64 $\pm$ 0,24	0,07
Glicose (mg/dL)	43,3 $\pm$ 15,3	53,3 $\pm$ 10,45	0,09
Fibrinogênio (mg/dL)	800 (400-1000)*	400 (200-600)	<0,0001
Proteínas Totais (g/dL)	7,1 $\pm$ 0,9	7,2 $\pm$ 0,6	0,69
Albumina (g/dL)	2,9 $\pm$ 0,4*	3,4 $\pm$ 0,31	<0,0001
Globulinas (g/dL)	4,2 $\pm$ 0,9	3,8 $\pm$ 0,6	0,19
Cálcio (mg/dL)	8,7 $\pm$ 1,2*	9,2 $\pm$ 1,1	0,033
Fósforo (mg/dL)	6,5 $\pm$ 1,5*	8 $\pm$ 2	0,004
Magnésio (mg/dL)	2,2 $\pm$ 0,4*	2,58 $\pm$ 0,32	0,0015
AST (UI/L)	114,5 $\pm$ 85,5	82 $\pm$ 27	0,12
FA (UI/L)	80 $\pm$ 50	70 $\pm$ 48	0,47
GGT (UI/L)	31 $\pm$ 18*	21 $\pm$ 8	0,028
Ureia (mg/dL)	28,5 $\pm$ 9,6	28 $\pm$ 14	0,82
Creatinina (mg/dL)	1,35 $\pm$ 0,3	1,3 $\pm$ 0,2	0,86
CK (UI/L)	210 $\pm$ 265	115 $\pm$ 119	0,99
Triglicerídeos (mg/dL)	11,5 $\pm$ 3	11 $\pm$ 3	0,65
Colesterol (mg/dL)	63 $\pm$ 19*	90 $\pm$ 25	0,0002

FONTE: O autor (2021).

NOTA: \* Diferença significativa entre grupos ( $p < 0,05$ ).

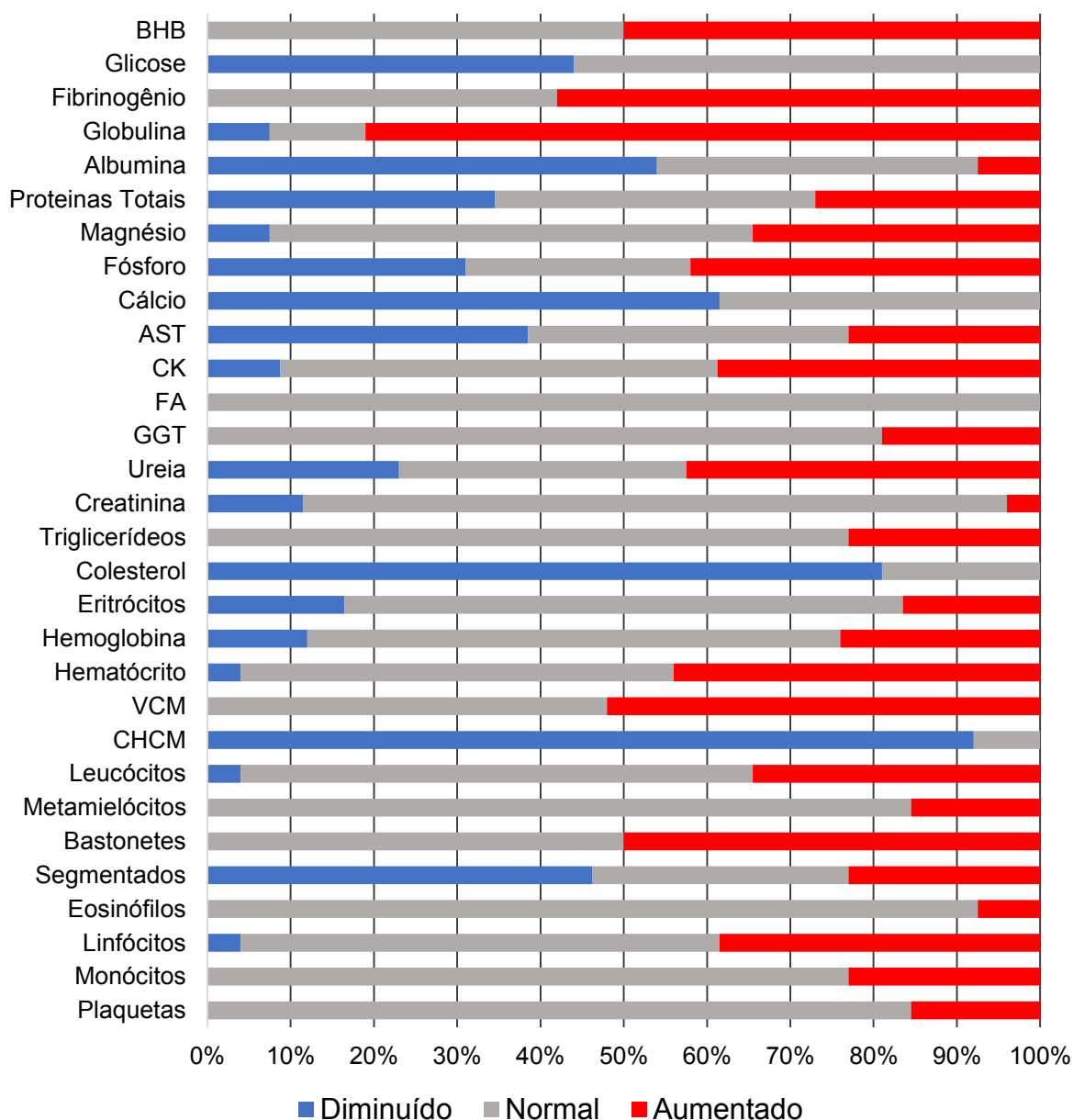
LEGENDA: BHB: Beta-hidroxibutirato; AST: Aspartato Aminotransferase; FA: Fosfatase Alcalina; GGT: Gama-glutamil Transferase; CK: Creatina Quinase.

A hipoalbuminemia ocorreu em 54% dos animais (Gráfico 2). A redução da albumina acontece de forma gradual durante o quadro inflamatório, podendo ser mais evidente nos quadros mais crônicos (ECKERSALL, 2008), além disso, o quadro de desidratação aumenta as concentrações de albumina (RUSSELL e ROUSSEL, 2007). Como dentre as vacas, 44% apresentaram policitemia sugerindo desidratação, isto pode ter reduzido a frequência de hipoalbuminemia apresentada neste estudo.

A hiperglobulinemia ocorreu em 81% das vacas (Gráfico 2). O aumento da concentração de globulinas pode ser devido ao quadro de desidratação e também por estímulos inflamatórios, uma vez que este grupo inclui as proteínas de fase aguda e imunoglobulinas (JOHNS, 2015), o que reforça a presença de quadro inflamatório nas vacas avaliadas. O aumento da concentração de globulinas teve correlação com a menor gravidade da metrite ( $r_s = -0,57$ ;  $p = 0,04$ ). No estímulo crônico com mais de uma semana, ocorre aumento na síntese destas proteínas (ALLISON, 2012b). A menor gravidade da metrite foi correlacionada com maior tempo de evolução ( $r_s = -0,53$ ;  $p =$

0,005), e desta forma, a evolução mais prolongada pode justificar a maior concentração de globulinas, sendo que o histórico de distocia teve correlação com maiores concentrações de globulinas ( $r_s = 0,40$ ;  $p = 0,042$ ) e estas metrites se manifestaram com mais dias após o parto.

GRÁFICO 3: FREQUÊNCIA DE VACAS DO GRUPO METRITE EM RELAÇÃO AOS PARÂMETROS SANGÜÍNEOS



FONTE: O autor (2021).

LEGENDA: BHB: Beta-hidroxibutirato; VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média; AST: Aspartato Aminotransferase; FA: Fosfatase Alcalina; GGT: Gama-glutamil Transferase; CK: Creatina Quinase.



Quanto ao leucograma das vacas avaliadas, as principais alterações encontradas, foram em relação ao número de neutrófilos e à presença de células jovens desta linhagem celular, onde 92,5% das vacas com metrite tiveram alterações sugestivas do quadro inflamatório/infeccioso (Tabela 4).

O leucograma em resposta à inflamação nos bovinos tem diferenças quando comparado a outras espécies (TORNQUIST e RIGAS, 2010). O recrutamento de neutrófilos leva à neutropenia em doenças graves e agudas, como metrite e mastite (JONES e ALLISON, 2007). Em 46,5% das vacas com metrite houve neutropenia (Gráfico 3).

TABELA 4: FREQUÊNCIA DE ALTERAÇÕES NO NÚMERO DE NEUTRÓFILOS SEGMENTADOS E PRESENÇA DE DESVIO À ESQUERDA EM VACAS COM METRITE.

<b>Alteração hematológica</b>	<b>Porcentagem</b>
Neutropenia	27%
Neutropenia com Desvio à Esquerda	19,25%
Segmentados normais com Desvio à esquerda	23%
Neutrofilia com Desvio à esquerda	7,75%
Neutrofilia	15,25%
Sem alterações de neutrófilos	7,75%

FONTE: O autor (2021).

A inflamação rapidamente consome a pequena reserva de neutrófilos segmentados na espécie bovina, gerando a neutropenia, que se mantém por dias devido à lenta resposta da medula óssea (WEISER, 2012). De 24 a 48 horas após o início do estímulo inflamatório, as células jovens como bastonetes e metamielócitos começam a aparecer na corrente sanguínea, ocorrendo neutropenia com desvio à esquerda. Dentro de três a cinco dias os números de neutrófilos podem subir, atingir a normalidade, mas manter o desvio à esquerda (TORNQUIST e RIGAS, 2010; JONES e ALLISON, 2007). A presença de neutrófilos bastonetes, ou seja, desvio à esquerda, ocorreu em metade das vacas (Gráfico 2), havendo diferença no número de bastonetes entre o grupo metrite e o grupo controle (Tabela 2), demonstrando o aumento da demanda de neutrófilos na metrite.

A ocorrência do desvio à esquerda foi associada à neutropenia em 19,25% dos animais, o que acontece na fase mais inicial do estímulo inflamatório; ao número normal de neutrófilos segmentados em 23% e à neutrofilia em 7,75% das vacas

(Tabela 4). Este aumento do número de neutrófilos acontece pela manutenção do quadro inflamatório, e a inflamação com maior tempo de evolução pode ser associada ao número de neutrófilos aumentados ou normais (TORNQUIST e RIGAS, 2010). A neutrofilia pode estar presente nos casos de inflamação leve a moderada ou durante a recuperação de condições inflamatórias mais graves (JONES e ALLISON, 2007), sendo que houve correlação negativa do número de neutrófilos segmentados com a gravidade da metrite ( $r_s = -0,50$ ;  $p = 0,01$ ), onde processos mais graves e agudos, levaram à neutropenia, e menos graves e com maior tempo de evolução, à neutrofilia.

As vacas com metrite aguda associada a retenção de placenta têm migração intensa de neutrófilos para o útero e, em consequência, neutrófilos jovens são lançados à circulação, que pode levar ao desvio à esquerda (HILLMAN e GILBERT, 2008). Observou-se que, as vacas com retenção de placenta tiveram correlação com maior número de neutrófilos jovens, bastonetes ( $r_s = 0,53$ ;  $p = 0,006$ ) e metamielócitos ( $r_s = 0,39$ ;  $p = 0,047$ ). Além disso, o número de dias após o parto teve correlação negativa com o número de células jovens, bastonetes ( $r_s = -0,46$ ;  $p = 0,018$ ) e metamielócitos ( $r_s = -0,49$ ;  $p = 0,012$ ), ou seja, quanto mais tardiamente a metrite manifestou-se, menor foi o desvio à esquerda apresentado. Desta forma, metrites em consequência da retenção de placenta podem ser mais graves, com maior desvio à esquerda, manifestando-se mais próximas ao parto.

A neutropenia foi comum (46,25%) e pode ser associada à redução na capacidade imunológica. Em um estudo, vacas com retenção de placenta tiveram menores quantidades de neutrófilos circulantes quando comparadas às vacas controle (MORETTI et al., 2016) e a redução na função dos neutrófilos é causa de retenção de placenta (KIMURA et al., 2002). Em outro estudo, vacas que desenvolveram metrite tiveram menores quantidades de granulócitos, que compreendem os neutrófilos, quando comparadas às vacas que não desenvolveram metrite, o que também pode refletir a menor capacidade imunológica destes animais (CUI et al., 2019). Diante disso, os resultados encontrados nas vacas com metrite do presente estudo podem também estar relacionados com a condição de menor função imunológica.

Ocorreu linfocitose em 40% e monocitose em 23% das vacas (Gráfico 2). A monocitose pode ocorrer em inflamações crônicas e necrose tecidual, entre outros, uma vez que estas células estão envolvidas na resposta imunológica (JONES e ALLISON, 2007), além disso, na inflamação aguda também pode ocorrer monocitose,

já a linfocitose, pode acontecer em casos de estímulo antigênico crônico, que pode ser por processos infecciosos bacterianos (WEBB e LATIMER, 2011) ou virais (JONES e ALLISON, 2007).

Na avaliação conjunta do fibrinogênio e do leucograma, todos os animais apresentaram algum tipo de alteração, pois nas duas vacas sem alterações em número de neutrófilos maduros ou jovens (7,75%), houve hiperfibrinogenemia. A hiperfibrinogenemia sem alteração do número de neutrófilos associada, pode estar presente em casos de inflamação crônica ou aguda de menor intensidade (TORNQUIST e RIGAS, 2010). Assim, é recomendada a avaliação de ambos em conjunto, sendo descrita a presença de hiperfibrinogenemia sem alteração em leucograma em 10% dos animais com doenças inflamatórias (SUTTON e HOBMAN, 1975).

A mastite foi doença comumente associada à metrite (34,5%), presente na forma subclínica em seis vacas e na forma clínica em três vacas, duas com gravidade 2 e uma com gravidade 4. Fato que está de acordo com Goff e Horst (1997), que relataram que ambas as doenças têm fatores predisponentes em comum, como a imunossupressão no período de transição e a hipocalcemia. Houve correlação entre a maior gravidade da mastite com o maior número de metamielócitos ( $r_s = 0,46$ ;  $p = 0,019$ ) e menor número de plaquetas ( $r_s = -0,41$ ;  $p = 0,043$ ). A liberação medular de células jovens é ordenada, conforme a intensidade do estímulo inflamatório, e o metamielócito é estágio de maturação mais jovem que os bastonetes (WEISER, 2012). Portanto, o estímulo foi mais intenso conforme o grau de gravidade da mastite associada à metrite, todavia a gravidade da metrite não apresentou correlação significativa com o aumento do número de bastonetes ou metamielócitos.

Quadros sépticos em bovinos são ligados ao maior consumo de plaquetas, levando inclusive à trombocitopenia pela coagulação intravascular disseminada (IRMAK et al., 2006). No presente estudo nenhum dos animais apresentou valores abaixo do parâmetro de referência para plaquetas. Quatro vacas com metrite sem doenças associadas apresentaram trombocitose. O aumento do número de plaquetas pode acontecer em resposta à liberação de citocinas em doenças inflamatórias (ROLAND et al., 2014).

Quanto às raças, das vacas que apresentaram metrite, 65% eram Holandesas Preto e Branco, 27% Jersoholanda e 8% Jersey. Houve diferença nas raças quanto à

presença de cetose associada, que foi mais comum em vacas de raça Jersey e seus cruzamentos (Tabela 5). A raça Jersey parece ser mais susceptível à cetose que vacas da raça Holandesa (EDDY, 2004; SANTOSCHI et al., 2014; TATONE et al., 2017).

Em 50% das vacas avaliadas a metrite estava associada à cetose (Tabelas 5, 6 e 7). A relação entre doenças infecciosas e metabólicas é complexa, e a presença de uma enfermidade pode influenciar na ocorrência de outra (GONZÁLEZ et al., 2014). Altas concentrações de BHB e AGNE, influenciam negativamente a resposta inflamatória, com falha na regulação da inflamação e menor função de células inflamatórias, o que predispõe a doenças infecciosas (SORDILLO e RAPHAEL, 2013). Vacas com balanço energético negativo mais intenso, com maiores níveis de AGNE e corpos cetônicos, têm redução na eficiência imunológica, que predispõe à infecção uterina (HAMMON et al., 2006), e vacas que desenvolveram metrite têm maior redução do consumo de matéria seca no pré e no pós-parto, apresentando maior balanço energético negativo (HAMMON et al., 2006, HUZZEY et al., 2007; PÉREZ-BÁEZ et al., 2019).

TABELA 5: DISTRIBUIÇÃO DOS DADOS DE RAÇA, NÚMERO DE PARTOS, ECC E DIAS APÓS O PARTO (MEDIANA E AMPLITUDE) DE VACAS COM METRITE ASSOCIADA OU NÃO À CETOSE.

<b>Parâmetros Avaliados</b>	<b>Metrite (n=13)</b>	<b>Metrite + Cetose (n=13)</b>	<b>Valor “p”</b>
Número de dias após o parto	10 (2-20)	8 (5-16)	0,57
Número de partos	3 (1-8)	2 (1-6)	0,56
Raça	1 (1-2)*	2 (1-3)	0,037
ECC	3 (2,5-4)*	3,5 (2,5-5)	0,0085

FONTE: O autor (2021).

NOTA: \* Diferença significativa entre grupos ( $p < 0,05$ ).

LEGENDA: ECC: Escore de Condição Corporal.

O aumento de marcadores inflamatórios já foi relatado em vacas que posteriormente desenvolveram cetose (ABUAJAMIEH et al., 2016), e vacas em condições inflamatórias induzidas pela administração de citocinas tiveram alterações metabólicas, com tendência de maior mobilização de reservas corporais e menor produção de leite, o que mostra a menor eficiência energética destas vacas, com maiores valores de AGNE e BHB (TREVISI et al., 2009).

As citocinas inflamatórias reduzem o consumo alimentar (KONSMAN et al., 2002), e vacas com metrite têm menor consumo de matéria seca e estase gastrointestinal, o que predispõe a doenças metabólicas como a cetose e a

hipocalcemia e deslocamento de abomaso (HILLMAN e GILBERT, 2008). No presente estudo, duas vacas apresentaram metrite, cetose e deslocamento de abomaso associados.

As vacas que apresentaram cetose associada à metrite tiveram altas concentrações de corpos cetônicos e baixas concentrações de glicose (Tabela 7). Para Baird (1982) a hipercetonemia e a hipoglicemia são manifestações características da cetose, que ocorrem associadas à redução de apetite, redução na produção de leite e perda de peso exacerbada.

Quanto ao escore de condição corporal, houve grande variação entre as vacas, indo de 2,5 a 5 (Tabela 1) e, vacas com cetose associada tiveram maior escore de condição corporal (Tabela 5). O escore de condição corporal teve correlação positiva com as concentrações de BHB ( $r_s = 0,59$ ;  $p = 0,001$ ). Vanholder et al. (2015) relataram que o alto escore de condição corporal é fator de risco para a cetose. Vacas com alto escore têm menor consumo de matéria seca e, assim, balanço energético negativo mais exacerbado (GARNSWORTHY e TOPPS, 1982). Vacas obesas têm falha na regulação da lipólise, com maior mobilização lipídica, que leva a maiores concentrações de AGNE, comprometendo a função hepática e dificultando a adaptação ao balanço energético negativo, o que leva à cetose e a lipidose hepática (HERDT, 2000), corroborando os resultados encontrados.

Para as vacas deste estudo, o escore de condição corporal teve correlação positiva com hematócrito ( $r_s = 0,49$ ;  $p = 0,012$ ), hemoglobina ( $r_s = 0,44$ ;  $p = 0,029$ ) e creatinina ( $r_s = 0,44$ ;  $p = 0,025$ ). O BHB teve correlação positiva com hematócrito ( $r_s = 0,46$ ;  $p = 0,022$ ), hemoglobina ( $r_s = 0,44$ ;  $p = 0,027$ ) e creatinina ( $r_s = 0,46$ ;  $p = 0,019$ ), sendo estes parâmetros mais altos nos animais do grupo metrite com cetose associada (Tabela 5, 6 e 7), o que pode indicar quadro de desidratação, sendo que Marutsova et al. (2015) também encontraram maior hematócrito e concentração de hemoglobina em vacas com cetose. A policitemia foi presente em 44% das vacas (Gráfico 2) e aconteceu principalmente nas vacas com cetose. A desidratação é causa comum de policitemia (JONES e ALLISON, 2007) e de elevação da concentração de creatinina (RUSSELL e ROUSSEL, 2007), embora em apenas uma vaca a creatinina tenha ultrapassado os intervalos de referência.

TABELA 6: VALORES (MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO) VERIFICADOS NO HEMOGRAMA DE VACAS COM METRITE ASSOCIADA OU NÃO À CETOSE.

Parâmetros Avaliados (unidades)	Metrite (n=13)	Metrite + Cetose (n=13)	Valor "p"
Eritrócitos (cils $\times 10^6/\mu\text{L}$ )	6,1 $\pm$ 1,38	6,85 $\pm$ 0,95	0,14
Hemoglobina (g/dL)	9,85 $\pm$ 2,1*	11,85 $\pm$ 1,4	0,012
Hematócrito (%)	29,5 $\pm$ 6,5*	35,4 $\pm$ 4	0,012
VCM (fL)	48,3 $\pm$ 3,6*	52 $\pm$ 5	0,04
CHCM (g/dL)	33,5 $\pm$ 1,23	33,5 $\pm$ 1,9	0,99
Leucócitos Totais (cils/ $\mu\text{L}$ )	14862 $\pm$ 9841*	8162 $\pm$ 3232	0,018
Neutrófilos Metamielócitos (cils/ $\mu\text{L}$ )	373 $\pm$ 829	4,6 $\pm$ 16,6	0,25
Neutrófilos Bastonetes (cils/ $\mu\text{L}$ )	1238 $\pm$ 3159	381 $\pm$ 493	0,25
Neutrófilos Segmentados (cils/ $\mu\text{L}$ )	4148 $\pm$ 3911	2447 1890	0,68
Eosinófilos (cils/ $\mu\text{L}$ )	403 $\pm$ 510	152 $\pm$ 186	0,12
Linfócitos (cils/ $\mu\text{L}$ )	7989 $\pm$ 7766	4741 $\pm$ 1900	0,26
Monócitos (cils/ $\mu\text{L}$ )	710 $\pm$ 388*	436 $\pm$ 311	0,03
Plaquetas (cils/ $\mu\text{L}$ )	536308 $\pm$ 239027	408833 $\pm$ 113391	0,10

FONTE: O autor (2021).

NOTA: \* Diferença significativa entre grupos ( $p < 0,05$ ).

LEGENDA: VCM: Volume Corpuscular Médio; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média.

Os valores de leucócitos foram menores nas vacas com cetose associada (Tabela 6), e houve correlação negativa entre as concentrações de corpos cetônicos e o número de leucócitos totais ( $r_s = -0,53$ ;  $p = 0,006$ ). O menor número de leucócitos em vacas com cetose já foi reportado por Marutsova et al. (2015). A concentração de BHB *in vitro* tem efeito inibitório na proliferação de células precursoras de granulócitos e monócitos da medula óssea, o que pode reduzir número de leucócitos e, além disso, a redução dos neutrófilos circulantes pode aumentar a susceptibilidade às infecções neste período (HOEBEN et al., 1999), fato que pode explicar os resultados encontrados.

As atividades das enzimas AST e CK foram mais altas nas vacas com cetose associada (Tabela 7), e vacas da raça Jersey apresentaram correlação com maiores valores de CK ( $r_s = 0,49$ ;  $p = 0,011$ ) e AST ( $r_s = 0,65$ ;  $p < 0,001$ ), provavelmente, pois a ocorrência de cetose foi mais comum nesta raça. Além disso, vacas com cetose apresentaram maior ECC (Tabela 5) e houve correlação positiva entre ECC e AST ( $r = 0,44$ ;  $p = 0,025$ ). As grandes quantidades de AGNE e triglicerídeos no fígado podem causar lesão hepática, elevando a atividade de enzimas séricas como AST e GGT (YANG et al., 2019). A AST indica lesão hepatocelular, podendo estar aumentada em casos de lipidose hepática, todavia, eleva-se também em casos lesão muscular, na qual a CK, enzima músculo-específica, também tem sua atividade aumentada (RUSSELL e ROUSSEL, 2007). Na cetose existe aumento do catabolismo das proteínas musculares para fornecer aminoácidos para a gliconeogênese (HERDT,

2000), e foi relatado que em animais anoréxicos, com intenso catabolismo muscular, pode ocorrer aumento da CK (ALLISON, 2012a). Assim, o aumento de AST e CK pode ser pela lesão hepática e aumento do catabolismo muscular, respectivamente.

TABELA 7: VALORES DOS EXAMES BIOQUÍMICOS QUANTITATIVOS (MÉDIA  $\pm$  DESVIO PADRÃO) E QUALITATIVOS (MEDIANA E AMPLITUDE) DE VACAS COM METRITE ASSOCIADA OU NÃO À CETOSE.

Parâmetros avaliados (unidades)	Metrite (n=13)	Metrite + Cetose (n=13)	Valor "p"
BHB (mmol/L)	0,52 $\pm$ 0,29*	4,8 $\pm$ 1,8	<0,0001
Glicose (mg/dL)	56,1 $\pm$ 7*	29,5 $\pm$ 7,5	<0,0001
Fibrinogênio (mg/dL)	800 (400-1000)	600 (400-800)	0,24
Proteínas Totais (g/dL)	7,2 $\pm$ 1,1	7 $\pm$ 0,6	0,64
Albumina (g/dL)	2,8 $\pm$ 0,3	3 $\pm$ 0,43	0,15
Globulinas (g/dL)	4,4 $\pm$ 1,1	4 $\pm$ 0,65	0,30
Cálcio (mg/dL)	8,75 $\pm$ 1	8,64 $\pm$ 1,4	0,32
Fósforo (mg/dL)	7,3 $\pm$ 1,4*	5,6 $\pm$ 1,1	0,002
Magnésio (mg/dL)	2,1 $\pm$ 0,35	2,25 $\pm$ 0,45	0,38
AST (UI/L)	85 $\pm$ 36*	144 $\pm$ 110	0,033
FA (UI/L)	96 $\pm$ 50,5	64 $\pm$ 45	0,051
GGT (UI/L)	30 $\pm$ 19	32 $\pm$ 18	0,33
Ureia (mg/dL)	28 $\pm$ 10	29 $\pm$ 10	0,74
Creatinina (mg/dL)	1,2 $\pm$ 0,2*	1,5 $\pm$ 0,3	0,74
CK (UI/L)	127,5 $\pm$ 235*	293 $\pm$ 277	0,016
Triglicerídeos (mg/dL)	12 $\pm$ 2,9	11,1 $\pm$ 3,2	0,49
Colesterol (mg/dL)	64,3 $\pm$ 19	61,5 $\pm$ 20	0,72

FONTE: O autor (2021).

NOTA: \* Diferença significativa entre grupos ( $p < 0,05$ ).

LEGENDA: BHB: Beta-hidroxibutirato; AST: Aspartato Aminotransferase; FA: Fosfatase Alcalina; GGT: Gama-glutamil Transferase; CK: Creatina Quinase.

A hipofosfatemia foi mais acentuada no grupo com cetose associada (Tabela 7), e 31% das vacas com metrite apresentaram hipofosfatemia, sendo 27% com cetose associada. A gravidade da metrite teve correlação negativa com as concentrações de fósforo ( $r_s = -0,57$ ;  $p = 0,029$ ). A redução de cálcio e fósforo em vacas com metrite já foi relatada por Cui et al. (2019), a redução das concentrações de fósforo sanguíneas tem relação com o menor consumo de matéria seca, pois a dieta é a principal fonte de fósforo (GOFF, 2015), além disso, animais com hipocalcemia têm maior secreção de paratormônio, que aumenta a perda de fósforo na saliva e na urina (GOFF, 2006). Para Kaya et al. (2016), vacas com cetose têm concentrações de fósforo mais baixas, principalmente pela inadequada ingestão associada a perdas de fósforo no leite. No presente estudo também houve correlação negativa das concentrações de BHB com as concentrações de cálcio ( $r_s = -0,39$ ;  $p = 0,047$ ) e fósforo ( $r_s = -0,42$ ;  $p = 0,033$ ), o que sugere que a associação da cetose com metrite, acarreta em menores concentrações de minerais.

Contudo, as menores concentrações de fósforo podem ter contribuído para o desenvolvimento de cetose nas vacas deste estudo. O fósforo tem relação com processos energéticos, sendo componente do ATP (STÄMPFLI e OLIVER-ESPINOSA, 2015). Além disso, Füll et al. (2010) e Pereira et al. (2013) relataram que a suplementação deste mineral (butofosfana) associado à cianocobalamina diminuiu a intensidade do balanço energético negativo, reduzindo concentrações de AGNE e BHB e elevando a glicemia, entre outros efeitos.

#### 5.4 CONCLUSÃO

A metrite afeta vacas nas primeiras três semanas após o parto. Os quadros menos graves de metrite são mais associadas ao histórico de distocia e se manifestam com maior número de dias após o parto, levando principalmente à neutrofilia e hiperglobulinemia. Já quadros mais graves tendem a ser associados principalmente à retenção de placenta, manifestando-se mais próximos ao parto e, levando principalmente à neutropenia e desvio à esquerda. Vacas com metrite apresentam redução das concentrações de cálcio, fósforo e magnésio. Ocorre redução nas concentrações de albumina e colesterol, além de aumento da concentração de fibrinogênio, indicando o quadro inflamatório.

A associação de cetose e metrite é comum, principalmente em vacas da raça Jersey e com ECC mais alto, levando ao aumento das concentrações de beta-hidroxibutirato e redução nas de glicose e fósforo. Ocorre também aumento do hematócrito, da concentração de hemoglobina e de creatinina, que sugerem desidratação e, o aumento de atividade sérica de AST e CK, sugere lesão hepática e catabolismo muscular, respectivamente.

#### REFERÊNCIAS

ABUJAMIEH, M.; KVIDERA, S. K.; FERNANDEZ, M. V. S.; NAYERI, A.; UPAH, N. C.; NOLAN, E. A.; LEI, S. M.; DEFRAIN, J. M.; GREEN, H. B.; SCHOENBERG, K. M.; TROUT, W. E.; BAUMGARD, L. H. Inflammatory biomarkers are associated with ketosis in periparturient Holstein Cows. **Research in veterinary science**, v. 109, p. 81-85, 2016.



ALLISON, R. W. Laboratory Detection of Muscle Injury. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012a. p. 476-479.

ALLISON, R. W. Laboratory Evaluation of Plasma and Serum Proteins. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012b. p. 460-475.

ALLISON, R. W. Laboratory Evaluation of the Liver. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012c. p. 401-424.

BAIN, P. J. Liver In: LATIMER, K. S. (5. Ed.) **Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. Chichester: John Wiley & Sons, 2011. p. 211-230.

BAIRD, G. D. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 1, p. 1-10, 1982.

BERTONI, G.; TREVISI, E. Use of the liver activity index and other metabolic variables in the assessment of metabolic health in dairy herds. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 413-431, 2013.

BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L.; LIBRANDI, F.; FERRARI, A.; BERTONI, G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 4, p. 1740-1750, 2007.

BRUSS, M. L. Lipids and Ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (6. Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Elsevier, 2008. p. 81-115.

BRUUN, J.; ERSBOLL, A. K.; ALBAN, L. Risk factors for metritis in Danish dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 54, n. 2, p. 179-190, 2002.

CUI, L.; WANG, H.; DING, Y.; LI, J.; LI, J. Changes in the blood routine, biochemical indexes and the pro-inflammatory cytokine expressions of peripheral leukocytes in postpartum dairy cows with metritis. **BMC veterinary research**, v. 15, n. 1, p. 1-10, 2019.

DAROS, R. R.; HÖTZEL, M. J.; BRAN, J. A.; LEBLANC, S. J.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Prevalence and risk factors for transition period diseases in grazing dairy cows in Brazil. **Preventive veterinary medicine**, v. 145, p. 16-22, 2017.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier?. **Journal of dairy science**, v. 82, n. 11, p. 2259-2273, 1999.

ECKERSALL, D. Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (6. Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Elsevier, 2008. p. 117-155.

EDDY, R.G. Major Metabolic Disorders. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. (2. Ed.) **Bovine Medicine, Diseases and Husbandry of Cattle**. Iowa: Blackwell Publishing, 2004. p. 781-803.

FOSTER, R. A. Sistema Reprodutor da Fêmea e Glândula Mamária. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY J. F. (2. Ed.) **Bases da patologia em veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 1088-1129.

FÜRL, M.; DENIZ, A.; WESTPHAL, B.; ILLING, C.; CONSTABLE, P. D. Effect of multiple intravenous injections of butaphosphan and cyanocobalamin on the metabolism of periparturient dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 9, p. 4155-4164, 2010.

GALVÃO, K. N. Association between immune function and development of uterine disease in dairy cows. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 318-322, 2012a.

GALVÃO, K. N. Risk Factors for Uterine Disease in Dairy Cows. **University of Florida - IFAS Extension**, v. 2012, n. 5, 2012b. Disponível em: <<https://edis.ifas.ufl.edu/vm183>>. Acesso em: 12 fevereiro 2021.

GALVÃO, K. N.; RISCO, C.; SANTOS, J. E. P. Identifying and treating uterine disease in dairy cows. **University of Florida - IFAS Extension**, v. 2011, n. 4, 2011. Disponível em: <<https://edis.ifas.ufl.edu/vm179>>. Acesso em: 12 fevereiro 2021.

GARNSWORTHY, P. C.; TOPPS, J. H. The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. **Animal Science**, v. 35, n. 1, p. 113-119, 1982.

GEORGE, J. W.; SNIPES, J.; LANE, V. M. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 39, n. 2, p. 138-148, 2010.

GILBERT, R. O.; GRÖHN, Y. T.; MILLER, P. M.; HOFFMAN, D. J. Effect of parity on periparturient neutrophil function in dairy cows. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 36, n. 1, p. 75-82, 1993.

GIULIODORI, M. J.; MAGNASCO, R. P.; BECU-VILLALOBOS, D.; LACAU-MENGIDO, I. M.; RISCO, C. A.; DE LA SOTA, R. L. Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 6, p. 3621-3631, 2013.

GOFF, J. P. Calcium, Magnesium, and Phosphorus. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p.1258-1269.

GOFF, J. P. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. **Animal feed science and technology**, v. 126, n. 3-4, p. 237-257, 2006.

GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The veterinary journal**, v. 176, n. 1, p. 50-57, 2008.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 7, p. 1260-1268, 1997.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CORRÊA, M. N.; SILVA, S. C. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. 2. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2014. 344p.

HAMMON, D. S.; EVJEN, I. M.; DHIMAN, T. R.; GOFF, J. P.; WALTERS, J. L. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 113, n. 1-2, p. 21-29, 2006.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, n. 2, p. 215-230, 2000.

HILLMAN, R.; GILBERT, R. O. Reproductive Diseases In: PEEK, S. F.; DIVERS, T. J. (2. Ed.) **Rebhun's Diseases of Dairy Cattle**. St. Louis: Elsevier Inc., 2008. p. 395-446.

HOEBEN, D.; BURVENICH, C.; MASSART-LEËN, A.; LENJOU, M.; NIJS, G.; VAN BOCKSTAELE, D.; BECKERS, J. In vitro effect of ketone bodies, glucocorticosteroids and bovine pregnancy-associated glycoprotein on cultures of bone marrow progenitor cells of cows and calves. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 68, n. 2-4, p. 229-240, 1999.

HOSSEIN-ZADEH, N. G.; ARDALAN, M. Cow-specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. **Veterinary research communications**, v. 35, n. 6, p. 345-354, 2011.

HUZZEY, J. M.; VEIRA, D. M.; WEARY, D. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 7, p. 3220-3233, 2007.

IRMAK, K.; SEN, I.; CÖL, R.; BIRDANE, F. M.; GÜZELBEKTES, H.; CIVELEK, T.; YILMAZ, A.; TURGUT, K. The evaluation of coagulation profiles in calves with suspected septic shock. **Veterinary research communications**, v. 30, n. 5, p. 497-503, 2006.

JOHNS, J. L. Alterations in Blood Proteins. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 386-392.

JONES, M. L.; ALLISON, R. W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 377-402, 2007.

KANEENE, J. B.; MILLER, R. Epidemiological study of metritis in Michigan dairy cattle. **Veterinary research**, v. 25, n. 2-3, p. 253-257, 1994.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Elsevier, 2008. 904 p.

KAYA, A.; ÖZKAN, C.; KOZAT, S.; AKGÜL, Y.; ÖZBEK, M. Evaluation of cobalt, copper, manganese, magnesium and phosphorus levels in cows with clinical ketosis. **Pak Vet Journal**, v. 36, n. 2, p. 236-238, 2016.

- KESSLER, E. C.; GROSS, J. J.; BRUCKMAIER, R. M.; ALBRECHT, C. Cholesterol metabolism, transport, and hepatic regulation in dairy cows during transition and early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 9, p. 5481-5490, 2014.
- KIMURA, K.; GOFF, J. P.; KEHRLI, M. E; REINHARDT, T. A. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 3, p. 544-550, 2002.
- KONSMAN, J. P.; PARNET, P.; DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications. **Trends in neurosciences**, v. 25, n. 3, p. 154-159, 2002.
- LEBLANC, S. J. Monitoring Metabolic Health of Dairy Cattle in the Transition Period. **Journal of Reproduction and Development**. v. 56, p. 29-35, 2010.
- LEBLANC, S. J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 102-114, 2008.
- MAHNANI, A.; SADEGHI-SEFIDMAZGI, A.; CABRERA, V. E. Consequences and economics of metritis in Iranian Holstein dairy farms. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 9, p. 6048-6057, 2015.
- MARTINEZ, N.; RISCO, C. A.; LIMA, F. S.; BISINOTTO, R. S.; GRECO, L. F.; RIBEIRO, E. S.; MAUNSELL, F.; GALVÃO, K.; SANTOS, J. E. P. Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 12, p. 7158-7172, 2012.
- MARUTSOVA, V.; BINEV, R.; MARUTSOV, P. Comparative clinical and haematological investigations in lactating cows with subclinical and clinical ketosis. **Macedonian Veterinary Review**, v. 38, n. 2, p. 159-166, 2015.
- MORETTI, P.; PROBO, M.; CANTONI, A.; PALTRINIERI, S.; GIORDANO, A. Fluctuation of neutrophil counts around parturition in Holstein dairy cows with and without retained placenta. **Research in veterinary science**, v. 107, p. 207-212, 2016.
- MULLIGAN, F.; O'GRADY, L.; RICE, D.; DOHERTY, M. Production diseases of the transition cow: Milk fever and subclinical hypocalcaemia. **Irish Veterinary Journal**, v. 59, n. 12, p. 697, 2006.
- NEVES, R. C.; LENO, B. M.; BACH, K. D.; MCART, J. A. A. Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with disease and milk production. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 10, p. 9321-9331, 2018.
- NOAKES, D. E.; PARKINSON, T. J.; ENGLAND, G. C. W. **Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics**. 8. Ed. London: Elsevier Saunders. 2001 p. 868.
- NOBRE, M. M.; AZEVEDO, R. A.; CAMPOS, E. F.; LAGE, C. F. A.; GLÓRIA, J. R.; SATURNINO, H. M.; COELHO, S. G. Impacto econômico da retenção de placenta em vacas leiteiras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 450-455, 2018.

OETZEL, G. R. Herd-level ketosis—diagnosis and risk factors. In: Preconference seminar 7C Dairy Herd Problem Investigation Strategies: Transition Cow Troubleshooting. **Proceedings of the 40th Annual Conference American Association of Bovine Practitioners**, Vancouver. 2007. p. 67-91.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 651-674, 2004.

OVERTON, M.; FETROW, J. Economics of postpartum uterine health. Dairy Cattle Reproduction Council Convention, 2008, Omaha. **Proceedings Dairy Cattle Reproduction Council**, p. 39-44, 2008.

PEEK, S. F.; DIVERS, T. J. Metabolic Diseases. In: PEEK, S. F.; DIVERS, T. J. (2. Ed.) **Rebhun's Diseases of Dairy Cattle**. St. Louis: Elsevier Inc., 2008. p. 590-603.

PEREIRA, R. A.; SILVEIRA, P. A. S.; MONTAGNER, P.; SCHNEIDER, A.; SCHMITT, E.; RABASSA, V. R.; PFEIFER, L. F. M.; DEL PINO, F. A. B.; PULGA, M. E.; CORRÊA, M. N Effect of butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum metabolism and milk production in dairy cows. **Animal**, v. 7, n. 7, p. 1143-1147, 2013.

PÉREZ-BÁEZ, J.; RISCO, C. A.; CHEBEL, R. C.; GOMES, G. C.; GRECO, L. F.; TAO, S.; THOMPSON, I. M.; AMARAL, B. C.; ZENOBI, M. G.; MARTINEZ, N.; STAPLES, C. R.; DAHL, G. E.; HERNÁNDEZ, J. A.; SANTOS, J. E. P.; GALVÃO, K. N. Association of dry matter intake and energy balance prepartum and postpartum with health disorders postpartum: Part I. Calving disorders and metritis. **Journal of dairy science**, v. 102, n. 10, p. 9138-9150, 2019.

REINHARDT, T. A.; LIPPOLIS, J. D.; MCCLUSKEY, B. J.; GOFF, J. P.; HORST, R. L. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The Veterinary Journal**, v. 188, n. 1, p. 122-124, 2011.

ROCHE, J. R.; FRIGGENS, N. C.; KAY, J. K.; FISHER, M. W.; STAFFORD, K. J.; BERRY, D. P. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 12, p. 5769-5801, 2009.

ROLAND, L.; DRILLICH, M.; IWERSEN, M. Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 26, n. 5, p. 592-598, 2014.

RUSSELL, K. E.; ROUSSEL, A. J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 403-426, 2007.

SANTSCHI, D. E.; MOORE, R. K.; LEFEBVRE, D. M. Prevalence of subclinical ketosis detected by near infra-red analysis of BHB in DHI milk samples. In: American Dairy Science Association Meeting. Kansas City, Abstract 1779. 2014. **Journal of Dairy Science**. v. 97, E. Suppl. 1, 2014. p.868.

SEPÚLVEDA-VARAS, P.; WEARY, D. M.; NORO, M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Transition diseases in grazing dairy cows are related to serum cholesterol and other analytes. **PloS one**, v. 10, n. 3, 13 p., 2015.

SHARKEY, L. C.; OVERMANN, J. A. Alterations in the Erythron. In: SMITH, B. P. (5. ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015a. p. 376-380.

SHARKEY, L. C.; OVERMANN, J. A. Alterations in the Leukogram. In: SMITH, B. P. (5. ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015b. p. 381-385.

SHELDON, I. M.; BARRETT, D. C.; BOYD, H. The Postpartum Period. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. (2. Ed.) **Bovine Medicine, Diseases and Husbandry of Cattle**. 2. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2004. p. 508-529.

SHELDON, I. M.; LEWIS, G. S.; LEBLANC, S. J.; GILBERT, R. O. Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v. 65, n. 8, p. 1516-1530, 2006.

SHELDON, I. M.; WILLIAMS, E. J.; MILLER, A. N. A.; NASH, D. M.; HERATH, S. Uterine diseases in cattle after parturition. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 115-121, 2008.

SORDILLO, L. M.; RAPHAEL, W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 267-278, 2013.

STÄMPFLI, H.; OLIVER-ESPINOSA, O. Clinical Chemistry Tests. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 350-373.

SUTTON, R. H.; HOBMAN, B. The value of plasma fibrinogen estimations in cattle: a comparison with total leucocyte and neutrophil counts. **New Zealand veterinary journal**, v. 23, n. 3, p. 21-27, 1975.

TATONE, E. H.; DUFFIELD, T. F.; LEBLANC, S. J.; DEVRIES, T. J.; GORDON, J. L. Investigating the within-herd prevalence and risk factors for ketosis in dairy cattle in Ontario as diagnosed by the test-day concentration of  $\beta$ -hydroxybutyrate in milk. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 2, p. 1308-1318, 2017.

TORNQUIST, S. J.; RIGAS, J. Interpretation of Ruminant Leukocyte Responses. In: WEISS, D.; WARDROP, K. J. (6. Ed.) **Schalm's Veterinary Hematology**. Ames: Willey-Blackwell, 2010. p. 307-313.

TREVISI, E.; AMADORI, M.; BAKUDILA, A. M.; BERTONI, G. Metabolic changes in dairy cows induced by oral, low-dose interferon-alpha treatment. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 9, p. 3020-3029, 2009.

VANHOLDER, T.; PAPEN, J.; BEMERS, R.; VERTENTEN, G.; BERGE, A. C. B. Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 2, p. 880-888, 2015.

VENJAKOB, P. L.; BORCHARDT, S.; HEUWIESER, W. Hypocalcemia—Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 11, p. 9258-9266, 2017.

WEBB, J. L.; LATIMER, K. S. Leukocytes. In: LATIMER, K. S. (5. Ed.) **Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. Chichester: John Wiley & Sons, 2011. p.45-82.

WEISER, G. Interpretation of Leukocyte Responses in Disease. In: THRALL, A.M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012. p. 127-139.

WILDMAN, E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E.; BOMAN, R. L.; TROUTT JR., H. F.; LESCH, T. N. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of dairy science**, v. 65, n. 3, p. 495-501, 1982.

YANG, W.; ZHANG, B.; XU, C.; ZHANG, H.; XIA, C. Effects of ketosis in dairy cows on blood biochemical parameters, milk yield and composition, and digestive capacity. **Journal of veterinary research**, v. 63, n. 4, p. 555-560, 2019.

## REFERÊNCIAS

- ABUJAMIEH, M.; KVIDERA, S. K.; FERNANDEZ, M. V. S.; NAYERI, A.; UPAH, N. C.; NOLAN, E. A.; LEI, S. M.; DEFRAIN, J. M.; GREEN, H. B.; SCHOENBERG, K. M.; TROUT, W. E.; BAUMGARD, L. H. Inflammatory biomarkers are associated with ketosis in periparturient Holstein Cows. **Research in veterinary science**, v. 109, p. 81-85, 2016.
- ACKERMANN, M. R. Inflamação e cicatrização. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY J. F. (2. Ed.) **Bases da patologia em veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 89-146.
- ADKINS, P. R. F.; MIDDLETON, J. R. Methods for diagnosing mastitis. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 34, n. 3, p. 479-491, 2018.
- ALLISON, R. W. Laboratory Detection of Muscle Injury. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012a. p. 476-479.
- ALLISON, R. W. Laboratory Evaluation of Plasma and Serum Proteins. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012a. p. 460-475.
- ALLISON, R. W. Laboratory Evaluation of the Liver. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012b. p. 401-424.
- ALLISON, R. W. Laboratory Evaluation of the Pancreas and Glucose Metabolism. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012c. p. 425-440.
- ALVARENGA, E. A.; MOREIRA, G. H. F. A.; FACURY FILHO, E. J.; LEME, F. O. P.; COELHO, S. G.; MOLINA, L. R.; LIMA, J. A. M.; CARVALHO, A. U. Avaliação do perfil metabólico de vacas da raça Holandesa durante o período de transição. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 35, n. 3, p. 281-290, 2015.
- ANDERSSON, L. Concentrations of blood and milk ketone bodies, blood isopropanol and plasma glucose in dairy cows in relation to the degree of hyperketonaemia and clinical signs. **Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A**, v. 31, n. 1-10, p. 683-693, 1984.
- ANDERSSON, L. Subclinical ketosis in dairy cows. **Veterinary clinics of north america: Food animal practice**, v. 4, n. 2, p. 233-251, 1988.
- BAIN, P. J. Liver. In: LATIMER, K. S. (5. Ed.) **Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. Chichester: John Wiley & Sons, 2011. p. 211-230.
- BAIRD, G. D. Primary ketosis in the high-producing dairy cow: clinical and subclinical disorders, treatment, prevention, and outlook. **Journal of Dairy Science**, v. 65, n. 1, p. 1-10, 1982.



BAIRD, G. D.; HIBBITT, K. G.; HUNTER, G. D.; LUND, P.; STUBBS, M.; KREBS, H. A. Biochemical aspects of bovine ketosis. **Biochemical Journal**, v. 107, n. 5, p. 683-689, 1968.

BAUMAN, D. E. Regulation of nutrient partitioning during lactation: homeostasis and homeorhesis revisited. In: CRONJÉ, P. B. (1. Ed.) **Ruminant physiology: digestion, metabolism, growth and reproduction**. Wallingford: CAB International, 2000. p. 311-328.

BAUMAN, D. E.; CURRIE, W. B. Partitioning of nutrients during pregnancy and lactation: a review of mechanisms involving homeostasis and homeorhesis. **Journal of dairy science**, v. 63, n. 9, p. 1514-1529, 1980.

BAUMANN, H.; GAULDIE, J. The acute phase response. **Immunology today**, v. 15, n. 2, p. 74-80, 1994.

BEAGLEY, J. C.; WHITMAN, K. J.; BAPTISTE, K. E.; SCHERZER, J. Physiology and treatment of retained fetal membranes in cattle. **Journal of veterinary internal medicine**, v. 24, n. 2, p. 261-268, 2010.

BELL, A. W. Regulation of organic nutrient metabolism during transition from late pregnancy to early lactation. **Journal of animal science**, v. 73, n. 9, p. 2804-2819, 1995.

BELL, A. W.; BAUMAN, D. E. Adaptations of glucose metabolism during pregnancy and lactation. **Journal of mammary gland biology and neoplasia**, v. 2, n. 3, p. 265-278, 1997.

BERGMAN, E. N. Hyperketonemia-ketogenesis and ketone body metabolism. **Journal of dairy science**, v. 54, n. 6, p. 936-948, 1971.

BERTICS, S. J.; GRUMMER, R. R.; CADORNIGA-VALINO, C.; STODDARD, E. E. Effect of prepartum dry matter intake on liver triglyceride concentration and early lactation. **Journal of dairy science**, v. 75, n. 7, p. 1914-1922, 1992.

BERTONI, G.; TREVISI, E. Diet-health relationship in the transition period: consequences on energy balance and efficiency. In: 59th Annual Meeting EAAP, Vilnius. **Book of Abstracts of the 59th Annual Meeting of the European Association for Animal Production**, Vilnius. 2008. 9 p.

BERTONI, G.; TREVISI, E. Use of the liver activity index and other metabolic variables in the assessment of metabolic health in dairy herds. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 413-431, 2013.

BERTONI, G.; TREVISI, E.; HAN, X.; BIONAZ, M. Effects of Inflammatory Conditions on Liver Activity in Puerperium Period and Consequences for Performance in Dairy Cows. **Journal of Dairy Science**, v.91, n.9, p. 3300-3310, 2008.

BIONAZ, M.; TREVISI, E.; CALAMARI, L.; LIBRANDI, F.; FERRARI, A.; BERTONI, G. Plasma paraoxonase, health, inflammatory conditions, and liver function in transition dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 4, p. 1740-1750, 2007.

BOUDA, J.; OCHOA, L. N.; QUIROZ-ROCHA, G. F. Interpretação dos Perfis de Laboratório em Bovinos. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BORGES, J. B.; CECIM, M. (1.

Ed.) **Uso de provas de campo e laboratório clínico em doenças metabólicas e ruminais dos bovinos**. Porto Alegre: Biblioteca Setorial da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS, 2000. p. 19-22.

BRADFORD, B. J.; YUAN, K.; FARNEY, J. K.; MAMEDOVA, L. K.; CARPENTER, A. J. Invited review: Inflammation during the transition to lactation: New adventures with an old flame. **Journal of Dairy Science**, v. 98, n. 10, p. 6631-6650, 2015.

BRADLEY, A. J. Bovine mastitis: an evolving disease. **The veterinary journal**, v. 164, n. 2, p. 116-128, 2002.

BRUSS, M. L. Lipids and Ketones. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (6. Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Elsevier, 2008. p. 81-115.

BRUUN, J.; ERSBOLL, A. K.; ALBAN, L. Risk factors for metritis in Danish dairy cows. **Preventive Veterinary Medicine**, v. 54, n. 2, p. 179-190, 2002.

BURTON, J. L.; MADSEN, S. A.; CHANG, L.; WEBER, P. S. D.; BUCKHAM, K. R.; VAN DORP, R.; HICKEY, M.; EARLEY, B. Gene expression signatures in neutrophils exposed to glucocorticoids: A new paradigm to help explain "neutrophil dysfunction" in parturient dairy cows. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 105, n. 3-4, p. 197-219, 2005.

BURVENICH, C.; VAN MERRIS, V.; MEHRZAD, J.; DIEZ-FRAILE, A.; DUCHATEAU, L. Severity of E. coli mastitis is mainly determined by cow factors. **Veterinary research**, v. 34, n. 5, p. 521-564, 2003.

CHAGAS, L. M.; LUCY, M. C.; BACK, P. J.; BLACHE, D.; LEE, J. M.; GORE, P. J. S.; SHEAHAN, A. J.; ROCHE, J. R. Insulin resistance in divergent strains of Holstein-Friesian dairy cows offered fresh pasture and increasing amounts of concentrate in early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 92, n. 1, p. 216-222, 2009.

CHAPINAL, N.; CARSON, M.; DUFFIELD, T. F.; CAPEL, M.; GODDEN, S.; OVERTON, M.; SANTOS, J. E. P.; LEBLANC, S. J. The association of serum metabolites with clinical disease during the transition period. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 10, p. 4897-4903, 2011.

CHAPINAL, N.; LEBLANC, S. J.; CARSON, M.; LESLIE, K. E.; GODDEN, S.; CAPEL, M.; SANTOS, J. E. P.; OVERTON, M. W.; DUFFIELD, T. F. Herd-level association of serum metabolites in the transition period with disease, milk production, and early lactation reproductive performance. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 10, p. 5676-5682, 2012.

CUI, L.; WANG, H.; DING, Y.; LI, J.; LI, J. Changes in the blood routine, biochemical indexes and the pro-inflammatory cytokine expressions of peripheral leukocytes in postpartum dairy cows with metritis. **BMC veterinary research**, v. 15, n. 1, p. 1-10, 2019.

CUIYU, Z.; CHANG, Z.; JIANG, Z.; CHENG, X.; YOU, Z. H. The relationship between insulin resistance and type II ketosis in dairy cows. **Acta Scientiae Veterinariae**, v. 47, n. 1, 2019.

DAROS, R. R.; HÖTZEL, M. J.; BRAN, J. A.; LEBLANC, S. J.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Prevalence and risk factors for transition period diseases in grazing dairy cows in Brazil. **Preventive veterinary medicine**, v. 145, p. 16-22, 2017.

DAVIDSON, A. P.; STABENFELDT, G. H. Gestação e Parto. In: KLEIN, B. G. (5. Ed.) **Cunningham tratado de Fisiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p. 431-438.

DAVIES, C. J.; HILL, J. R.; EDWARDS, J. L.; SCHRICK, F. N.; FISHER, P. J.; ELDRIDGE, J. A.; SCHLAFFER, D. H. Major histocompatibility antigen expression on the bovine placenta: its relationship to abnormal pregnancies and retained placenta. **Animal reproduction science**, v. 82, p. 267-280, 2004.

DE KOSTER, J. D.; OPSOMER, G. Insulin resistance in dairy cows. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 299-322, 2013.

DEGARIS, P. J.; LEAN, I. J. Milk fever in dairy cows: A review of pathophysiology and control principles. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 58-69, 2008.

DRACKLEY, J. K. Biology of dairy cows during the transition period: The final frontier?. **Journal of dairy science**, v. 82, n. 11, p. 2259-2273, 1999.

DUCUSIN, R. J. T.; UZUKA, Y.; SATOH, E.; OTANI, M.; NISHIMURA, M.; TANABE, S.; SARASHINA, T. Effects of extracellular Ca<sup>2+</sup> on phagocytosis and intracellular Ca<sup>2+</sup> concentrations in polymorphonuclear leukocytes of postpartum dairy cows. **Research in veterinary science**, v. 75, n. 1, p. 27-32, 2003.

DUFFIELD, T. F.; LISSEMORE, K. D.; MCBRIDE, B. W.; LESLIE, K. E. Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 2, p. 571-580, 2009.

ECKERSALL, D. Proteins, Proteomics, and the Dysproteinemias. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (6. Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Elsevier, 2008. p. 117-155.

EDDY, R. G. Major Metabolic Disorders. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. (2. Ed.) **Bovine Medicine, Diseases and Husbandry of Cattle**. Iowa: Blackwell Publishing, 2004. p. 781-803.

EDMONDSON, P. W.; BRAMLEY, A. J. Mastitis. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. (2. Ed.) **Bovine Medicine, Diseases and Husbandry of Cattle**. Iowa: Blackwell Publishing, 2004. p. 326-336.

EVANS, E. W. Proteins, Lipids, and Carbohydrates. In: LATIMER, K. S. (5. Ed.) **Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. Chichester: John Wiley & Sons, 2011. p. 173-210.

FLEMING, S. A. Ketosis of Ruminants (Acetonemia). In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 1252-1258.

FORBES, J. M. Voluntary food intake and reproduction. **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 46, n. 2, p. 193-201, 1987.

FOSTER, R. A. Sistema Reprodutor da Fêmea e Glândula Mamária. In: MCGAVIN, M. D.; ZACHARY J. F. (2. Ed.) **Bases da patologia em veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. p. 1088-1129.

FÜRLL, M.; DENIZ, A.; WESTPHAL, B.; ILLING, C.; CONSTABLE, P. D. Effect of multiple intravenous injections of butaphosphan and cyanocobalamin on the metabolism of periparturient dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 9, p. 4155-4164, 2010.

GALVÃO, K. N. Association between immune function and development of uterine disease in dairy cows. **Animal Reproduction**, v. 9, n. 3, p. 318-322, 2012a.

GALVÃO, K. N. Risk Factors for Uterine Disease in Dairy Cows. **University of Florida - IFAS Extension**, v. 2012, n. 5, 2012b. Disponível em: <<https://edis.ifas.ufl.edu/vm183>>. Acesso em: 12 fevereiro 2021.

GALVÃO, K. N.; RISCO, C.; SANTOS, J. E. P. Identifying and treating uterine disease in dairy cows. **University of Florida - IFAS Extension**, v. 2011, n. 4, 2011. Disponível em: <<https://edis.ifas.ufl.edu/vm179>>. Acesso em: 12 fevereiro 2021.

GARNSWORTHY, P. C.; TOPPS, J. H. The effect of body condition of dairy cows at calving on their food intake and performance when given complete diets. **Animal Science**, v. 35, n. 1, p. 113-119, 1982.

GEORGE, J. W.; SNIPES, J.; LANE, V. M. Comparison of bovine hematology reference intervals from 1957 to 2006. **Veterinary Clinical Pathology**, v. 39, n. 2, p. 138-148, 2010.

GILBERT, R. O.; GRÖHN, Y. T.; MILLER, P. M.; HOFFMAN, D. J. Effect of parity on periparturient neutrophil function in dairy cows. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 36, n. 1, p. 75-82, 1993.

GIULIODORI, M. J.; MAGNASCO, R. P.; BECU-VILLALOBOS, D.; LACAU-MENGIDO, I. M.; RISCO, C. A.; DE LA SOTA, R. L. Metritis in dairy cows: Risk factors and reproductive performance. **Journal of dairy science**, v. 96, n. 6, p. 3621-3631, 2013.

GOFF, J. P. Calcium, Magnesium, and Phosphorus. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015a. p.1258 -1269.

GOFF, J. P. Disorders of Carbohydrate and Fat Metabolism. In: REECE, W. O.; ERICKSON, H. H.; GOFF, J. P.; UEMURA, E. E. (13. Ed.) **Dukes' physiology of domestic animals**. Ithaca: John Wiley & Sons, 2015b. p. 541-550.

GOFF, J. P. Macromineral disorders of the transition cow. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 471-494, 2004.

GOFF, J. P. Macromineral physiology and application to the feeding of the dairy cow for prevention of milk fever and other periparturient mineral disorders. **Animal feed science and technology**, v. 126, n. 3-4, p. 237-257, 2006.

GOFF, J. P. Major advances in our understanding of nutritional influences on bovine health. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 4, p. 1292-1301, 2006b.

GOFF, J. P. Pathophysiology of calcium and phosphorus disorders. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, n. 2, p. 319-337, 2000.

GOFF, J. P. Ruminant Digestive Physiology and Intestinal Microbiology. In: REECE, W. O.; ERICKSON, H. H.; GOFF, J. P.; UEMURA, E. E. (13. Ed.) **Dukes' physiology of domestic animals**. Ithaca: John Wiley & Sons, 2015c. p. 522-53.

GOFF, J. P. The monitoring, prevention, and treatment of milk fever and subclinical hypocalcemia in dairy cows. **The veterinary journal**, v. 176, n. 1, p. 50-57, 2008.

GOFF, J. P.; HORST, R. L. Physiological changes at parturition and their relationship to metabolic disorders. **Journal of dairy science**, v. 80, n. 7, p. 1260-1268, 1997.

GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A.; HORST, R. L. Enzymes and factors and action in normal controlling vitamin D metabolism and milk fever cows. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 12, p. 4022-4032, 1991.

GONZÁLEZ, F. H. D. Indicadores sangüíneos do metabolismo mineral em ruminantes. In: GONZÁLEZ, F. H. D.; BARCELLOS, J.; PATIÑO, H. O.; RIBEIRO, L. A. (1. Ed.) **Perfil metabólico em ruminantes: seu uso em nutrição e doenças nutricionais**. Porto Alegre: Biblioteca Setorial da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS, 2000. p. 31-52.

GONZÁLEZ, F. H. D.; CORRÊA, M. N.; SILVA, S. C. **Transtornos metabólicos nos animais domésticos**. 2. ed. Porto Alegre: Editora da UFRGS, 2014. 344p.

GONZALEZ, F. H. D.; SCHEFFER, J. L. F. S. Perfil sangüíneo: ferramenta de análise clínica, metabólica e nutricional. In: ORTOLANI, E. L.; GONZÁLEZ, F. H. D.; BARROS, L.; CAMPOS, R. (1. Ed.) **Avaliação metabólico-nutricional de vacas leiteiras por meio de fluidos corporais (sangue, leite e urina) - Anais do curso realizado no 29º Congresso Nacional de Medicina Veterinária**, Porto Alegre: Biblioteca Setorial da Faculdade de Medicina Veterinária da UFRGS, 2002. p. 5-17.

GRECO, D. S.; STABENFELDT, G. H. Glândulas endócrinas e suas funções. In: KLEIN, B. G. (5. Ed.) **Cunningham tratado de Fisiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014. p. 374-407.

GROSS, J.; VAN DORLAND, H. A.; BRUCKMAIER, R. M.; SCHWARZ, F. J. Performance and metabolic profile of dairy cows during a lactational and deliberately induced negative energy balance with subsequent realimentation. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 4, p. 1820-1830, 2011.

GRUMMER, R. R. Etiology of lipid-related metabolic disorders in periparturient dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 76, n. 12, p. 3882-3896, 1993.

GRUMMER, R. R. Impact of changes in organic nutrient metabolism on feeding the transition dairy cow. **Journal of animal science**, v. 73, n. 9, p. 2820-2833, 1995.

GRUMMER, R. R.; BERTICS, S.; LACOUNT, D. W.; SNOW, J. A.; DENTINE, M. R.; STAUFFACHER, R. H. Estrogen induction of fatty liver in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 73, n. 6, p. 1537-1543, 1990.

GRUMMER, R. R.; MASHEK, D. G.; HAYIRLI, A. Dry matter intake and energy balance in the transition period. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 447-470, 2004.

GUNNINK, J. W. Pre-partum leucocytic activity and retained placenta. **Veterinary Quarterly**, v. 6, n. 2, p. 52-54, 1984a.

GUNNINK, J. W. Retained placenta and leucocytic activity. **Veterinary Quarterly**, v. 6, n. 2, p. 49-51, 1984b.

HAMMON, D. S.; EVJEN, I. M.; DHIMAN, T. R.; GOFF, J. P.; WALTERS, J. L. Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 113, n. 1-2, p. 21-29, 2006.

HAYASHI, T.; ONO, H.; SATO, K.; MIYAKE, M. Plasma levels of cortisol, free fatty acids, glucose and calcium in cows with milk fever. **The Japanese Journal of Veterinary Science**, v. 41, n. 6, p. 617-621, 1979.

HAYIRLI, A. The role of exogenous insulin in the complex of hepatic lipidosis and ketosis associated with insulin resistance phenomenon in postpartum dairy cattle. **Veterinary research communications**, v. 30, n. 7, p. 749-774, 2006.

HAYIRLI, A.; GRUMMER, R. R.; NORDHEIM, E. V.; CRUMP, P. M. Animal and dietary factors affecting feed intake during the prefresh transition period in Holsteins. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 12, p. 3430-3443, 2002.

HEINRICH, P. C.; CASTELL, J. V.; ANDUS, T. Interleukin-6 and the acute phase response. **Biochemical journal**, v. 265, n. 3, p. 621-636, 1990.

HERDT, T. H. Fuel homeostasis in the ruminant. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 4, n. 2, p. 213-231, 1988.

HERDT, T. H. Ruminant adaptation to negative energy balance: Influences on the etiology of ketosis and fatty liver. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 16, n. 2, p. 215-230, 2000.

HERDT, T. H.; SAYEGH, A. I. Digestão: O Processo Fermentativo. IN: KLEIN, B. G. (5. Ed.) **Cunningham tratado de Fisiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014a. p. 320-341.

HERDT, T. H.; SAYEGH, A. I. Utilização de Nutrientes após a Absorção. IN: KLEIN, B. G. (5. Ed.) **Cunningham tratado de Fisiologia Veterinária**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2014b. p. 342-358.

HILLMAN, R.; GILBERT, R. O. Reproductive Diseases In: PEEK, S. F.; DIVERS, T. J. (2. Ed.) **Rebhun's Diseases of Dairy Cattle**. St. Louis: Elsevier Inc., 2008. p. 395-446.

HOEBEN, D.; BURVENICH, C.; MASSART-LEËN, A.; LENJOU, M.; NIJS, G.; VAN BOCKSTAELE, D.; BECKERS, J. In vitro effect of ketone bodies, glucocorticosteroids and bovine pregnancy-associated glycoprotein on cultures of bone marrow progenitor cells of cows and calves. **Veterinary immunology and immunopathology**, v. 68, n. 2-4, p. 229-240, 1999.

HOFFMANN, W. E.; SOLTER, P. F. Diagnostic Enzymology of Domestic Animals. In: KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. (6. Ed.) **Clinical biochemistry of domestic animals**. San Diego: Elsevier, 2008. p. 351-378.

HOLTENIUS, P.; HOLTENIUS, K. New aspects of ketone bodies in energy metabolism of dairy cows: a review. **Journal of Veterinary Medicine Series A**, v. 43, n. 1-10, p. 579-587, 1996.

HORST, R. L.; GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A.; BUXTON, D. R. Strategies for preventing milk fever in dairy cattle. **Journal of dairy Science**, v. 80, n. 7, p. 1269-1280, 1997.

HORST, R. L.; JORGENSEN, N. A. Elevated plasma cortisol during induced and spontaneous hypocalcemia in ruminants. **Journal of dairy science**, v. 65, n. 12, p. 2332-2337, 1982.

HOSSEIN-ZADEH, N. G.; ARDALAN, M. Cow-specific risk factors for retained placenta, metritis and clinical mastitis in Holstein cows. **Veterinary research communications**, v. 35, n. 6, p. 345-354, 2011.

HUZZEY, J. M.; VEIRA, D. M.; WEARY, D. M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Prepartum behavior and dry matter intake identify dairy cows at risk for metritis. **Journal of dairy science**, v. 90, n. 7, p. 3220-3233, 2007.

INGVARTSEN, K. L. Feeding-and management-related diseases in the transition cow: Physiological adaptations around calving and strategies to reduce feeding-related diseases. **Animal feed science and technology**, v. 126, n. 3-4, p. 175-213, 2006.

INGVARTSEN, K. L.; ANDERSEN, J. B. Integration of metabolism and intake regulation: a review focusing on periparturient animals. **Journal of dairy science**, v. 83, n. 7, p. 1573-1597, 2000.

INGVARTSEN, K. L.; MOYES, K. M. Factors contributing to immunosuppression in the dairy cow during the periparturient period. **Japanese Journal of Veterinary Research**, v. 63, s. 1, p. 15-24, 2015.

IRMAK, K.; SEN, I.; CÖL, R.; BIRDANE, F. M.; GÜZELBEKTES, H.; CIVELEK, T.; YILMAZ, A.; TURGUT, K. The evaluation of coagulation profiles in calves with suspected septic shock. **Veterinary research communications**, v. 30, n. 5, p. 497-503, 2006.

JOHNS, J. L. Alterations in Blood Proteins. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 386-392.

JONES, M. L.; ALLISON, R. W. Evaluation of the ruminant complete blood cell count. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 377-402, 2007.

KAHN, C. R. Insulin resistance, insulin insensitivity, and insulin unresponsiveness: a necessary distinction. **Metabolism**, v. 27, n. 12, p. 1893-1902, 1978.

KANEENE, J. B.; MILLER, R. Epidemiological study of metritis in Michigan dairy cattle. **Veterinary research**, v. 25, n. 2-3, p. 253-257, 1994.

KANEKO, J. J.; HARVEY, J. W.; BRUSS, M. L. **Clinical biochemistry of domestic animals**. 6. ed. San Diego: Elsevier, 2008. 904 p.

KAYA, A.; ÖZKAN, C.; KOZAT, S.; AKGÜL, Y.; ÖZBEK, M. Evaluation of cobalt, copper, manganese, magnesium and phosphorus levels in cows with clinical ketosis. **Pak Vet Journal**, v. 36, n. 2, p. 236-238, 2016.

KAYANO, M.; KIDA, K. Identifying alterations in metabolic profiles of dairy cows over the past two decades in Japan using principal component analysis. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 12, p. 8764-8774, 2015.

KELTON, D. F.; LISSEMORE, K. D.; MARTIN, R. E. Recommendations for recording and calculating the incidence of selected clinical diseases of dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 81, n. 9, p. 2502-2509, 1998.

KESSLER, E. C.; GROSS, J. J.; BRUCKMAIER, R. M.; ALBRECHT, C. Cholesterol metabolism, transport, and hepatic regulation in dairy cows during transition and early lactation. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 9, p. 5481-5490, 2014.

KIMURA, K.; GOFF, J. P.; KEHRLI, M. E.; REINHARDT, T. A. Decreased neutrophil function as a cause of retained placenta in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 85, n. 3, p. 544-550, 2002.

KIMURA, K.; GOFF, J. P.; REINHARDT, T. A.; SATO, S.; TYLER, H. D. Association between retained placenta and impaired neutrophil function in dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 44, n. 1, p. 1-1, 2003.

KIMURA, K.; REINHARDT, T. A.; GOFF, J. P. Parturition and hypocalcemia blunts calcium signals in immune cells of dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 7, p. 2588-2595, 2006.

KONSMAN, J. P.; PARNET, P.; DANTZER, R. Cytokine-induced sickness behaviour: mechanisms and implications. **Trends in neurosciences**, v. 25, n. 3, p. 154-159, 2002.

KOZLOSKI, G. V. **Bioquímica dos Ruminantes**. 3.ed. Santa Maria: Editora UFSM, 2011. 216 p.

LAVEN, R. A.; PETERS, A. R. Bovine retained placenta: aetiology, pathogenesis and economic loss. **Veterinary Record**, v. 139, n. 19, p. 465-471, 1996.

LEBLANC, S. J. Interactions of metabolism, inflammation, and reproductive tract health in the postpartum period in dairy cattle. **Reproduction in Domestic Animals**, v. 47, p. 18-30, 2012.

LEBLANC, S. J. Monitoring Metabolic Health of Dairy Cattle in the Transition Period. **Journal of Reproduction and Development**. v. 56, p. 29-35, 2010.

LEBLANC, S. J. Postpartum uterine disease and dairy herd reproductive performance: a review. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 102-114, 2008.

LEBLANC, S. J. Review: relationships between metabolism and neutrophil function in dairy cows in the peripartum period. **Animal**, v. 14, s. 1, p. 44-54, 2020.

LEBLANC, S. J.; LISSEMORE, K. D.; KELTON, D. F.; DUFFIELD, T. F.; LESLIE, K. E. Major advances in disease prevention in dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 4, p. 1267-1279, 2006.



LUKAS, J. M.; RENEAU, J. K.; LINN, J. G. Water intake and dry matter intake changes as a feeding management tool and indicator of health and estrus status in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 91, n. 9, p. 3385-3394, 2008.

MAHNANI, A.; SADEGHI-SEFIDMAZGI, A.; CABRERA, V. E. Consequences and economics of metritis in Iranian Holstein dairy farms. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 9, p. 6048-6057, 2015.

MARTINEZ, N.; RISCO, C. A.; LIMA, F. S.; BISINOTTO, R. S.; GRECO, L. F.; RIBEIRO, E. S.; MAUNSELL, F.; GALVÃO, K.; SANTOS, J. E. P. Evaluation of periparturient calcium status, energetic profile, and neutrophil function in dairy cows at low or high risk of developing uterine disease. **Journal of dairy science**, v. 95, n. 12, p. 7158-7172, 2012.

MARTINEZ, N.; SINEDINO, L. D. P.; BISINOTTO, R. S.; RIBEIRO, E. S.; GOMES, G. C.; LIMA, F. S.; GRECO, L. F.; RISCO, C. A.; GALVÃO, K. N.; TAYLOR-RODRIGUEZ, D.; DRIVER, J. P.; THATCHER, W. W.; SANTOS, J. E. P. Effect of induced subclinical hypocalcemia on physiological responses and neutrophil function in dairy cows. **Journal of Dairy Science**, v. 97, n. 2, p. 874-887, 2014.

MARTÍN-TERESO, J.; MARTENS, H. Calcium and magnesium physiology and nutrition in relation to the prevention of milk fever and tetany (dietary management of macrominerals in preventing disease). **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 30, n. 3, p. 643-670, 2014.

MARUTSOVA, V.; BINEV, R.; MARUTSOV, P. Comparative clinical and haematological investigations in lactating cows with subclinical and clinical ketosis. **Macedonian Veterinary Review**, v. 38, n. 2, p. 159-166, 2015.

MAURYA, S. K.; SINGH, O. P. Blood Biochemical Profile and Nutritional Status of Dairy Cows under Field Conditions. **Journal of Animal Research**, v. 6, n. 1, p. 167, 2016.

MCART, J. A. A.; NYDAM, D. V.; OSPINA, P. A.; OETZEL, G. R. A field trial on the effect of propylene glycol on milk yield and resolution of ketosis in fresh cows diagnosed with subclinical ketosis. **Journal of dairy science**, v. 94, n. 12, p. 6011-6020, 2011.

MCDUGALL, S.; ARTHUR, D. G.; BRYAN, M. A.; VERMUN, J. J.; WEIR, A. M. Clinical and bacteriological response to treatment of clinical mastitis with one of three intramammary antibiotics. **New Zealand veterinary journal**, v. 55, n. 4, p. 161-170, 2007.

MELLENDEZ, P.; DONOVAN, G. A.; RISCO, C. A.; GOFF, J. P. Plasma mineral and energy metabolite concentrations in dairy cows fed an anionic prepartum diet that did or did not have retained fetal membranes after parturition. **American journal of veterinary research**, v. 65, n. 8, p. 1071-1076, 2004.

MORETTI, P.; PROBO, M.; CANTONI, A.; PALTRINIERI, S.; GIORDANO, A. Fluctuation of neutrophil counts around parturition in Holstein dairy cows with and without retained placenta. **Research in veterinary science**, v. 107, p. 207-212, 2016.

MULLIGAN, F. J.; DOHERTY, M. L. Production diseases of the transition cow. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 3-9, 2008.

MULLIGAN, F.; O'GRADY, L.; RICE, D.; DOHERTY, M. Production diseases of the transition cow: Milk fever and subclinical hypocalcaemia. **Irish Veterinary Journal**, v. 59, n. 12, p. 697, 2006.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Nutrient requirements of dairy cattle**. 7. Ed. Washington: National Academies Press, 2001.

NEVES, R. C.; LENO, B. M.; BACH, K. D.; MCART, J. A. A. Epidemiology of subclinical hypocalcemia in early-lactation Holstein dairy cows: The temporal associations of plasma calcium concentration in the first 4 days in milk with disease and milk production. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 10, p. 9321-9331, 2018.

NOAKES, D. E.; PARKINSON, T. J.; ENGLAND, G. C. W. **Arthur's Veterinary Reproduction and Obstetrics**. 8. Ed. London: Elsevier Saunders. 2001 p. 868.

NOBRE, M. M.; AZEVEDO, R. A.; CAMPOS, E. F.; LAGE, C. F. A.; GLÓRIA, J. R.; SATURNINO, H. M.; COELHO, S. G. Impacto econômico da retenção de placenta em vacas leiteiras. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 38, n. 3, p. 450-455, 2018.

OETZEL, G. R. Herd-level ketosis—diagnosis and risk factors. In: Preconference seminar 7C Dairy Herd Problem Investigation Strategies: Transition Cow Troubleshooting. **Proceedings of the 40th Annual Conference American Association of Bovine Practitioners**, Vancouver. 2007. p. 67-91.

OETZEL, G. R. Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 20, n. 3, p. 651-674, 2004.

O'HARA, L. A.; BÅGE, R.; HOLTENIUS, K. Impaired insulin sensitivity and reduced fertility in obese dairy cows. **Acta Veterinaria Scandinavica**, v. 57, s. 1, p. 1, 2015

OLIVEIRA, R. S. B. R.; MOURA, A. R. F.; PÁDUA, M. F. S.; BARBON, I. M.; SILVA, M. E. M.; SANTOS, R. M.; MUNDIM, A. V.; SAUT, J. P. E. Perfil metabólico de vacas mestiças leiteiras com baixo escore de condição corporal no periparto. **Pesquisa Veterinária Brasileira**, v. 34, n. 4, p. 362-368, 2014.

OSPINA, P. A.; NYDAM, D. V.; STOKOL, T.; OVERTON, T. R. Evaluation of nonesterified fatty acids and  $\beta$ -hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: Critical thresholds for prediction of clinical diseases. **Journal of dairy science**, v. 93, n. 2, p. 546-554, 2010.

OVERTON, M.; FETROW, J. Economics of postpartum uterine health. Dairy Cattle Reproduction Council Convention, 2008, Omaha. **Proceedings Dairy Cattle Reproduction Council**, p. 39-44, 2008.

PEEK, S. F.; DIVERS, T. J. Metabolic Diseases. In: PEEK, S. F.; DIVERS, T. J. (2. Ed.) **Rebhun's Diseases of Dairy Cattle**. St. Louis: Elsevier Inc., 2008. p. 590-603.

PEREIRA, R. A.; SILVEIRA, P. A. S.; MONTAGNER, P.; SCHNEIDER, A.; SCHMITT, E.; RABASSA, V. R.; PFEIFER, L. F. M.; DEL PINO, F. A. B.; PULGA, M.

E.; CORRÊA, M. N Effect of butaphosphan and cyanocobalamin on postpartum metabolism and milk production in dairy cows. **Animal**, v. 7, n. 7, p. 1143-1147, 2013.

PÉREZ-BÁEZ, J.; RISCO, C. A.; CHEBEL, R. C.; GOMES, G. C.; GRECO, L. F.; TAO, S.; THOMPSON, I. M.; AMARAL, B. C.; ZENOBI, M. G.; MARTINEZ, N.; STAPLES, C. R.; DAHL, G. E.; HERNÁNDEZ, J. A.; SANTOS, J. E. P.; GALVÃO, K. N. Association of dry matter intake and energy balance prepartum and postpartum with health disorders postpartum: Part I. Calving disorders and metritis. **Journal of dairy science**, v. 102, n. 10, p. 9138-9150, 2019.

PETERSEN, H.; NIELSEN, J.; HEEGAARD, P. M. H. **Application of acute phase protein measurements in veterinary clinical chemistry**. Veterinary Research, BioMed Central, v. 35, n. 2, p.163-187, 2004.

PIRES, J. A. A.; SOUZA, A. H.; GRUMMER, R. R. Induction of hyperlipidemia by intravenous infusion of tallow emulsion causes insulin resistance in Holstein cows. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 6, p. 2735-2744, 2007.

PUTMAN, A. K.; BROWN, J. L.; GANDY, J. C.; WISNIESKI, L.; SORDILLO, L. M. Changes in biomarkers of nutrient metabolism, inflammation, and oxidative stress in dairy cows during the transition into the early dry period. **Journal of dairy science**, v. 101, n. 10, p. 9350-9359, 2018.

PYÖRÄLÄ, S. Mastitis in Post-Partum Dairy Cows. **Reproduction in domestic animals**, v. 43, p. 252-259, 2008.

QU, Y.; FADDEN, A. N.; TRABER, M. G.; BOBE, G. Potential risk indicators of retained placenta and other diseases in multiparous cows. **Journal of dairy science**, v. 97, n. 7, p. 4151-4165, 2014.

RADIN, M. J. Laboratory Evaluation of Lipids. In: THRALL, A.M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012. p. 480-496.

RADOSTITS, O. M.; GAY, C. C.; BLOOD, D. C.; HINCHCLIFF, K. W. **Clínica veterinária: um tratado de doenças dos bovinos, ovinos, suínos, caprinos e eqüinos**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

RECZYŃSKA, D.; ZALEWSKA, M.; CZOPOWICZ, M.; KABA, J.; ZWIERZCHOWSKI, L.; BAGNICKA, E. Acute phase protein levels as an auxiliary tool in diagnosing viral diseases in ruminants—a review. **Viruses**, v. 10, n. 9, p. 502, 2018.

REINHARDT, T. A.; LIPPOLIS, J. D.; MCCLUSKEY, B. J.; GOFF, J. P.; HORST, R. L. Prevalence of subclinical hypocalcemia in dairy herds. **The Veterinary Journal**, v. 188, n. 1, p. 122-124, 2011.

RIEKERINK, R. G. M.; BARKEMA, H. W.; KELTON, D. F.; SCHOLL, D. T. Incidence rate of clinical mastitis on Canadian dairy farms. **Journal of dairy science**, v. 91, n. 4, p. 1366-1377, 2008.

ROCHE, J. R.; BERRY, D. P. Periparturient climatic, animal, and management factors influencing the incidence of milk fever in grazing systems. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 7, p. 2775-2783, 2006.

ROCHE, J. R.; FRIGGENS, N. C.; KAY, J. K.; FISHER, M. W.; STAFFORD, K. J.; BERRY, D. P. Invited review: Body condition score and its association with dairy cow productivity, health, and welfare. **Journal of dairy science**, v. 92, n. 12, p. 5769-5801, 2009.

RODRIGUES, R. COOKE, R. F.; FERREIRA, H. A. O.; FLORIDO, R. R.; CAMARGO, V.; GODOY, H. O.; BRUNI, G. A.; VASCONCELOS, J. L. M. Impacts of subclinical hypocalcemia on physiological, metabolic, and productive responses of Holstein× Gir dairy cows. **Translational Animal Science**, v. 4, n. 2, p. 1060-1069, 2020.

RODRÍGUEZ, E. M.; ARÍS, A.; BACH, A. Associations between subclinical hypocalcemia and postparturient diseases in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 9, p. 7427-7434, 2017.

ROLAND, L.; DRILLICH, M.; IWERSEN, M. Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. **Journal of Veterinary Diagnostic Investigation**, v. 26, n. 5, p. 592-598, 2014.

RUEGG, P. L.; ERSKINE, R. J.; MORIN, D. E. Mammary Gland Health. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 1015-1043.

RUSSELL, K. E.; ROUSSEL, A. J. Evaluation of the ruminant serum chemistry profile. **Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice**, v. 23, n. 3, p. 403-426, 2007.

SABORÍO-MONTERO, A.; VARGAS-LEITÓN, B.; ROMERO-ZÚÑIGA, J. J.; SÁNCHEZ, J. M. Risk factors associated with milk fever occurrence in grazing dairy cattle. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 12, p. 9715-9722, 2017.

SALAZAR, L. F. L.; MARCONDES, M. I.; ROTTA, P. P. Manejo Nutricional no período de transição da vaca leiteira. ROTTA, P. P.; MARCONDES, M. I.; PEREIRA, B. M. **Nutrição e Manejo de Vacas Leiteiras**. 1. ed. Viçosa: Editora UFV, 2019. p. 62-127.

SANTSCHI, D. E.; MOORE, R. K.; LEFEBVRE, D. M. Prevalence of subclinical ketosis detected by near infra-red analysis of BHB in DHI milk samples. In: American Dairy Science Association Meeting. Kansas City, Abstract 1779. 2014. **Journal of Dairy Science**. v. 97, E. Suppl. 1, 2014. p.868.

SEPÚLVEDA-VARAS, P.; WEARY, D. M.; NORO, M.; VON KEYSERLINGK, M. A. G. Transition diseases in grazing dairy cows are related to serum cholesterol and other analytes. **PloS one**, v. 10, n. 3, 13 p., 2015.

SHARKEY, L. C.; OVERMANN, J. A. Alterations in the Erythron. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 376-380.

SHARKEY, L.C.; OVERMANN, J. A. Alterations in the Leukogram. In: SMITH, B. P. (5. ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015b. p. 381-385.

SHELDON, I. M.; BARRETT, D. C.; BOYD, H. The Postpartum Period. In: ANDREWS, A. H.; BLOWEY, R. W.; BOYD, H.; EDDY, R. G. (2. Ed.) **Bovine Medicine, Diseases and Husbandry of Cattle**. 2. ed. Iowa: Blackwell Publishing, 2004. p. 508-529.

SHELDON, I. M.; DOBSON, H. Postpartum uterine health in cattle. **Animal reproduction science**, v. 82, p. 295-306, 2004.

SHELDON, I. M.; LEWIS, G. S.; LEBLANC, S.; GILBERT, R. O. Defining postpartum uterine disease in cattle. **Theriogenology**, v. 65, n. 8, p. 1516-1530, 2006.

SHELDON, I. M.; WILLIAMS, E. J.; MILLER, A. N. A.; NASH, D. M.; HERATH, S. Uterine diseases in cattle after parturition. **The Veterinary Journal**, v. 176, n. 1, p. 115-121, 2008.

SORDILLO, L. M. Mammary Gland Immunobiology and Resistance to Mastitis. **The Veterinary Clinics of North America. Food Animal Practice**, v. 34, n. 3, p. 507-523, 2018.

SORDILLO, L. M.; RAPHAEL, W. Significance of metabolic stress, lipid mobilization, and inflammation on transition cow disorders. **Veterinary Clinics: Food Animal Practice**, v. 29, n. 2, p. 267-278, 2013.

STÄMPFLI, H.; OLIVER-ESPINOSA, O. Clinical Chemistry Tests. In: SMITH, B. P. (5. Ed.) **Large Animal Internal Medicine**. St. Louis: Elsevier, 2015. p. 350-373.

STEENEVELD, W.; HOGEVEEN, H.; BARKEMA, H. W.; VAN DEN BROEK, J.; HUIRNE, R. B. M. The influence of cow factors on the incidence of clinical mastitis in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 91, n. 4, p. 1391-1402, 2008.

STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. Cálcio, fósforo, magnésio e seus hormônios reguladores. In: STOCKHAM, S. L.; SCOTT, M. A. (2. Ed.) **Fundamentos de patologia clínica veterinária**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011. p. 496-532.

SUTTON, R. H.; HOBMAN, B. The value of plasma fibrinogen estimations in cattle: a comparison with total leucocyte and neutrophil counts. **New Zealand veterinary journal**, v. 23, n. 3, p. 21-27, 1975.

SVENSSON, C.; NYMAN, A.K.; WALLER, P. K.; EMANUELSON, U. Effects of housing, management, and health of dairy heifers on first-lactation udder health in southwest Sweden. **Journal of dairy science**, v. 89, n. 6, p. 1990-1999, 2006.

TARTTELIN, M. F.; GORSKI, R. A. The effects of ovarian steroids on food and water intake and body weight in the female rat. **European Journal of Endocrinology**, v. 72, n. 3, p. 551-568, 1973.

TATONE, E. H.; DUFFIELD, T. F.; LEBLANC, S. J.; DEVRIES, T. J.; GORDON, J. L. Investigating the within-herd prevalence and risk factors for ketosis in dairy cattle in Ontario as diagnosed by the test-day concentration of  $\beta$ -hydroxybutyrate in milk. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 2, p. 1308-1318, 2017.

TORNQUIST, S. J.; RIGAS, J. Interpretation of Ruminant Leukocyte Responses. In: WEISS, D.; WARDROP, K. J. (6. Ed.) **Schalm's Veterinary Hematology**. Ames: Willey-Blackwell, 2010. p. 307-313.

TRAJANO, H. P. **Parâmetros clínicos e laboratoriais de vacas leiteiras no período de transição manejadas em free stall**. 67 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013. Disponível em:

<<https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/5140/1/texto%20completo.pdf>>.  
Acesso em: 12 fevereiro 2021.

TREVISI, E.; AMADORI, M.; BAKUDILA, A. M.; BERTONI, G. Metabolic changes in dairy cows induced by oral, low-dose interferon-alpha treatment. **Journal of Animal Science**, v. 87, n. 9, p. 3020-3029, 2009.

VAN DEN TOP, A. M.; WENSING, T.; GEELLEN, M. J. H.; WENTINK, G. H.; VAN'T KLOOSTER, A. T.; BEVNEN, A. C. Time trends of plasma lipids and enzymes synthesizing hepatic triacylglycerol during postpartum development of fatty liver in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 78, n. 10, p. 2208-2220, 1995.

VAN SAUN, R. J. Metabolic profiles for evaluation of the transition period. In: American Association of Bovine Practitioners Proceedings of the Annual Conference. **Proceedings of AABP**, v. 39, 2006. p. 130-138.

VANHOLDER, T.; PAPEN, J.; BEMERS, R.; VERTENTEN, G.; BERGE, A. C. B. Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. **Journal of dairy science**, v. 98, n. 2, p. 880-888, 2015.

VENJAKOB, P. L.; BORCHARDT, S.; HEUWIESER, W. Hypocalcemia—Cow-level prevalence and preventive strategies in German dairy herds. **Journal of dairy science**, v. 100, n. 11, p. 9258-9266, 2017.

VAZQUEZ-AÑÓN, M.; BERTICS, S.; LUCK, M.; GRUMMER, R. R.; PINHEIRO, J. Peripartum liver triglyceride and plasma metabolites in dairy cows. **Journal of dairy science**, v. 77, n. 6, p. 1521-1528, 1994.

WANKHADE, P. R.; MANIMARAN, A.; KUMARESAN, A.; JEYAKUMAR, S.; RAMESHA, K.P.; SEJIAN, V.; RAJENDRAN, D.; VARGHESE, M.R. **Metabolic and immunological changes in transition dairy cows: A review**. Veterinary World, v.10, n.11, p. 1367-1377, 2017.

WEBB, J. L.; LATIMER, K. S. Leukocytes. In: LATIMER, K. S. (5. Ed.) **Duncan and Prasse's veterinary laboratory medicine: clinical pathology**. Chichester: John Wiley & Sons, 2011. p. 45-82.

WEISER, G. Interpretation of Leukocyte Responses in Disease. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012. p. 127-139.

WEISER, G. Introduction to Leukocytes and the Leukogram. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012a. p. 118-122.

WEISER, G. Laboratory Technology for Veterinary Medicine. In: THRALL, A. M.; WEISER, G.; ALISSON, R. W.; CAMPBELL, T. W. (2. Ed.) **Veterinary Hematology and Clinical Chemistry**. Ames: Willey-Blackwell, 2012b. p. 3-33.

WHITE, H. M. The role of TCA cycle anaplerosis in ketosis and fatty liver in periparturient dairy cows. **Animals**, v. 5, n. 3, p. 793-802, 2015.

WILDMAN, E. E.; JONES, G. M.; WAGNER, P. E.; BOMAN, R. L.; TROUTT JR., H. F.; LESCH, T. N. A dairy cow body condition scoring system and its relationship to selected production characteristics. **Journal of dairy science**, v. 65, n. 3, p. 495-501, 1982.

WU, J.; LIU, J.; WANG, D. Effects of body condition on the insulin resistance, lipid metabolism and oxidative stress of lactating dairy cows. **Lipids in health and disease**, v. 19, p. 1-7, 2020.

YANG, W.; ZHANG, B.; XU, C.; ZHANG, H.; XIA, C. Effects of ketosis in dairy cows on blood biochemical parameters, milk yield and composition, and digestive capacity. **Journal of veterinary research**, v. 63, n. 4, p. 555-560, 2019.

## ANEXO 1 CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO PROJETO PELO CEUA/PALOTINA

Ministério da Educação  
Universidade Federal do Paraná  
Setor Palotina  
Comissão de Ética no Uso de Animais



### Certificado

Certificamos que o **Protocolo nº 15/2019** referente ao projeto de pesquisa **Avaliação laboratorial das doenças metabólicas e infecciosas em vacas leiteiras no período de transição** sob responsabilidade da **Profa. Marilene Machado Silva**, está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi **APROVADO** pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor Palotina da UFPR (CEUA/Palotina) em **02/05/2019**.

O Docente responsável pelo envio do formulário deve estar ciente de que deve:

- informar qualquer intercorrência, efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo;
- informar sobre a necessidade de modificações ou emendas ao protocolo que foi descrito e aprovado, identificando a parte do protocolo a ser modificada e apresentando justificativas claras

Palotina, 02 de maio de 2019

### Certificate

*Certify that the **Protocol n. 15/2019** regarding the research project **Laboratory evaluation of metabolic and infectious diseases in dairy cows in the transition period of Marilene Machado Silva** is according to the **Ethical Principles of Animal Experimentation** adopted by the **National Council for Animal Experiments Control (CONCEA)** and was **APPROVED** by the **Ethics Committee on Animal Use of the UFPR – Setor Palotina (CEUA / Palotina)** in **May 02, 2019**.*

*Palotina, May 02, 2019.*

Prof. Geraldo Camilo Alberton  
Coordenador/Coordinator  
CEUA/Palotina - UFPR